

**Stoffwechseluntersuchungen, histologische  
und histochemische Beobachtungen an den  
Langerhans'schen Inseln von Kaninchen  
nach Gaben von  
N-(4-Methylbenzolsulfonyl)-  
N'-butylharnstoff**

**Alfons G. Kumpermond**

1960





Digitized by the Internet Archive  
in 2026



**Stoffwechseluntersuchungen, histologische  
und histochemische Beobachtungen an den  
Langerhans'schen Inseln von Kaninchen  
nach Gaben von  
N-(4-Methylbenzolsulfonyl)-  
N'-butylharnstoff**

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin  
verfaßt und  
einer Hohen Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
**Alfons G. Kumpermond**  
aus München

München 1960

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

|              |                                |
|--------------|--------------------------------|
| Referent:    | Privat-Dozent Dr. H. MASKE     |
| Correferent: | Professor Dr. Dr. G. BODECHTEL |
| Dekan:       | Professor Dr. Dr. H. EYER      |

Tag der mündlichen Prüfung: 25.10.1960



MEINEN VEREHRTEN ELTERN  
GEWIDMET



## INHALTSVERZEICHNIS

|                                                             | Seite |
|-------------------------------------------------------------|-------|
| I. Einleitung                                               |       |
| 1) Die oralen Antidiabetika                                 | 7     |
| 2) Theorien über die Wirkungsweise der oralen Antidiabetika | 8     |
| 3) Problemstellung                                          | 13    |
| 4) Versuchsanordnung                                        | 13    |
| 5) Theoretische Vorbemerkungen zur histochemischen Methode  | 14    |
| II. Material und Methoden                                   |       |
| 1) Versuchstiere                                            | 16    |
| 2) Lösungen                                                 | 16    |
| 3) Duodenalsondierung                                       | 17    |
| 4) Glukosebelastungen                                       | 18    |
| 5) Blutzuckertagesprofile                                   | 19    |
| 6) Histologische Untersuchungen                             | 19    |
| 7) Histochemische Untersuchungen                            | 21    |
| III. Ergebnisse                                             |       |
| 1) Verhalten des Körpergewichtes                            | 22    |
| 2) Glukosebelastungen                                       | 22    |
| 3) Blutzuckertagesprofile                                   | 23    |
| 4) Histologische Untersuchungen                             | 33    |
| 5) Histochemische Untersuchungen                            | 37    |
| IV. Diskussion der Ergebnisse                               |       |
| 1) Stoffwechsel                                             | 45    |
| 2) Histologische und histochemische Befunde                 | 45    |
| 3) Ausblick                                                 | 47    |
| V. Zusammenfassung                                          | 48    |
| VI. Schrifttum                                              | 49    |
| Lebenslauf                                                  |       |



## I. EINLEITUNG

## 1) DIE ORALEN ANTIDIABETIKA

Fortschritte in der Medizin waren oft einem kritisch beobachteten Zufallsbefund zu verdanken. Dies gilt auch für die blutzuckersenkende Wirkung verschiedener Sulfonylharnstoffe. Schon vorher kannte man Verbindungen, z.B. verschiedene Guanide, die oral zugeführt, eine Blutzuckersenkung erzielen. Deren Nebenwirkungen verhinderten jedoch die Anwendung zur Behandlung Zuckerkranker.

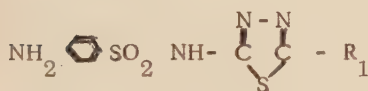
Von den neuen Substanzen, denen in den letzten Jahren erfahrene Kliniker einen umschriebenen Platz in der Diabetestherapie zugewiesen haben, bewährten sich bisher die folgenden mehr oder weniger:

Formel:

Die blutzuckersenkende Wirkung beobachteten zuerst:

- 1) 2 (p-aminobenzolsulfamido)-  
5-isopropyl thiodiazol  
= IPTD

1942 Janbon und Loubatières



$\text{R}_1$  = isopropyl

- 2) N-Sulfanilyl-N-butylharnstoff  
= BZ 55

1955 Franke und Fuchs

Handelsnamen: Nadisan  
Invenol

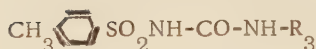


$\text{R}_2$  = n-butyl

- 3) N-(4-Methylbenzolsulfonyl)-  
N-butylharnstoff  
= D 860

1956 Erhart

Handelsnamen: Rastinon  
Artosin  
Orinase



$\text{R}_3 = \text{n-butyl}$

Als wirksamer Anteil von BZ 55 und D 860 erwies sich die Sulfonylharnstoffgruppe. Das Radikal R kann, wie sich zeigte, durch verschiedene Alkyle und Aryle ersetzt werden. Aber auch Teile des Harnstoffes können verändert werden, ohne dass es zu einem vollkommenen Aktivitätsverlust kommt.

## 2) THEORIEN ÜBER DIE WIRKUNGSWEISE DER ORALEN ANTIDIABETIKA

Während sich die Indikation für die Therapie abzuzeichnen beginnt, gibt es über den Wirkungsmechanismus dieser Substanzen noch sehr verschiedene Meinungen. Einig ist man sich bisher nur darüber, dass die Wirkungsweisen der angeführten Stoffe wegen der chemischen Strukturverwandtschaft und wegen der Voraussetzungen, unter denen sie wirken, gleiche oder doch sehr ähnliche sein müssen.

Zur Erklärung der Wirkung wurden bisher im wesentlichen folgende Theorien entwickelt und experimentell zu unterbauen versucht:

- 1) Eine Stimulierung der Insulinproduktion und Sekretion in den B-Zellen,
- 2) eine "Schädigung" der das Glukagon produzierenden A-Zellen,
- 3) eine direkte Wirkung auf Produktionsstätten insulinantagonistischer Hormone,
- 4) eine Hemmung des spezifischen Enzyms Insulinase,
- 5) sonstige Enzymaktivitätsbeeinflussung,
- 6) eine direkte Stoffwechselwirkung, wobei eine Wirkung einerseits auf das periphere Gewebe, andererseits auf die Leber gefordert wird.

Ad 1) Die Stimulierung der Insulinproduktion und -ausschüttung durch die Sulfonylharnstoffe vertreten LOUBATIÈRES und seine Mitarbeiter seit 1942. Sie stützen sich auf die Untersuchungsergebnisse, dass

- a) die IPTD-Wirkung in vieler Hinsicht der des Insulins entspricht, und dass

- b) zumindest das Vorhandensein eines funktionierenden Pankreasrestes mit intakten B-Zellen Voraussetzung für die blutzuckersenkende Wirkung der Substanz zu sein scheint.

Von anderer Seite wurde aber zu bedenken gegeben, dass der Wirkungsmechanismus auch ausserhalb der Langerhans'schen Inseln liegen kann. Z.B. könnte D 860 in die Stoffwechselvorgänge der Leber eingreifen und dadurch die Wirkungsdauer des Insulins beeinflusst werden. Dies könnte entweder dadurch geschehen, dass durch die Substanz ein besonders beständiger Insulinkomplex in der Leber entsteht, oder dass das abbauende Ferment des Insulins in der Bildung oder Wirkung gehemmt wird, oder dass durch D 860 die Freisetzung von Glukose in der Leber verringert wird.

Es könnte aber D 860 auch in den peripheren Stoffwechsel eingreifen, indem es etwa die Glukoseeinschleusung in die Zellen des Muskel- und Fettgewebes beschleunigt oder die Glukoseverwertung in der Peripherie verändert.

Ad 2) Dass die A-Zellen, die das angeblich insulinantagonistische Hormon Glukagon produzieren, geschädigt werden, oder dass die Wirkung von Glukagon durch Substanzen wie IPTD und verschiedene Guanide gehemmt wird, ist die Ansicht der Arbeitskreise um v. HOLT und FERNER. Diese griffen vor einigen Jahren (1954) die Versuche mit IPTD wieder auf. Tatsächlich beobachteten sie A-Zellveränderungen nach einer Behandlung mit verschiedenen blutzuckersenkenden Substanzen; das gleiche Bild bot sich jedoch auch bei anderen Untersuchungen mit unspezifischen, allgemein toxischen Substanzen, die den Blutzucker nicht wesentlich beeinflussten, z.B. mit  $\text{Co Cl}_2$  und verschiedenen lebertoxischen Substanzen. Die morphologischen Beobachtungen, dass A-Zellen zugrunde gehen, dürften auf einen unspezifischen Effekt zurückzuführen sein. Ausserdem sind sehr hohe toxische Dosen notwendig, um derartige Veränderungen zu erzielen, während sie bei therapeutischen Dosen von vielen Forschern vermisst wurden. Die Notwendigkeit einer ständigen therapeutischen Verabreichung in praxi unterstreicht diesen Sachverhalt.

Die Unterdrückung der Glukagonhyperglykämie bei Tieren, die mit sehr hohen Dosen von Sulfonylharnstoff (= SH) behandelt worden waren, wurde teilweise als Hemmung der hormonalen Wirkung gedeutet. Andere Forscher konnten eine solche verringerte Glukagonhyperglykämiezacke bei SH-behandelten normalen und diabetischen Menschen und Tieren nicht bestätigen. Einschränkend und die Widersprüche mildernd sei angeführt, dass die Auswertung solcher Experimente schwierig ist, da die Wirkung der einmaligen Glukagongabe von mehreren und dazu veränderlichen Faktoren, wie z.B. vom Leberglykogen, abhängig ist. Noch mehr kam diese Theorie ins Wanken, als man feststellte, dass therapeutische Dosen von Medikamenten der SH-Reihe bei alloxandiabetischen Tieren - bei denen nur

die B-, nicht aber die A-Zellen zerstört sind - keine blutzuckersenkende Wirkung erzielen. Schliesslich gilt es als noch nicht erwiesen, dass Glukagon ein essentielles Hormon mit einer Bedeutung für den Kohlenhydratstoffwechsel ist, die der des Insulins entspricht. Auch hat Glukagon keine reinen insulinantagonistischen Eigenschaften wie z.B. die Wachstumshormone.

Neuere Forschungen zeigten sogar eine insulinsynergistische Wirkung und einen günstigen Effekt bei Diabetikern.

Ad 3) Direkte Wirkungen von SH auf andere insulinantagonistische Hormone oder auf deren Produktionsstätten, die ausreichen würden, die BZ-senkende Wirkung zu erklären, wurden nicht gefunden: - Nebennierenlose Tiere sind empfindlicher gegenüber Insulin oder Rastinon im Hinblick auf die erzeugte Hypoglykämie als normale Tiere. Bereits mit geringen Dosen können schwere Hypoglykämien erzeugt werden.

- Hypophysektomierte Tiere sind empfindlicher gegen Insulin, aber nicht gegen Rastinon, verglichen mit normalen Tieren.

Die Diskrepanz zwischen der Insulin- bzw. Rastinenwirkung bei nebennieren- bzw. hypophysenlosen Tieren lässt sich mit der direkten Wirkung von Rastinon auf die Nebennieren erklären: Es kommt bei hypophysenlosen Tieren nach Rastinon nicht so schnell zur Hypoglykämie, weil gleichzeitig mit der blutzuckersenkenden Wirkung das Nebennierenmark zur Ausschüttung von Adrenalin stimuliert wird, das hier ausgleichend wirkt.

Ad 4) Die Hemmung des spezifischen Enzyms "Insulinase" soll nach MIRSKY (17, 50) auf Grund von Leberstoffwechseluntersuchungen die Ursache der blutzuckersenkenden Wirkung sein. Er fand, dass SH und verschiedene andere Verbindungen in vitro die Aktivität dieses Fermentes hemmen. Da dieses nicht rein dargestellt werden konnte, hat man an der Spezifität einer Insulinase Zweifel angemeldet. Denn andere Forscher fanden eine sehr breite Wirkung der "Insulinase", die durch viele Substanzen in vitro beeinflusst werden konnte ohne eine gleiche Wirkung auf den BZ im lebenden Organismus. Man spricht daher vorsichtiger von einem Enzym oder einer Enzymgruppe mit proteolytischer Aktivität auch gegen Insulin. Weiter ist anzuführen, dass die nötigen SH-Konzentrationen zur "Insulinasehemmung" viel höher sind als die, welche im Organismus erzielt werden können. Schliesslich zeigten Versuche mit  $J^{131}$ -Insulin keinen Unterschied in der Geschwindigkeit des Insulinabbaues, wie das bei Insulinasehemmung zu erwarten wäre. - Eine andere Beobachtung, die zugunsten der Insulinasetheorie ins Feld geführt wurde, war, dass die Wirkung von zugeführtem Insulin bei pankreatektomierten Hunden potenziert wird, wenn man gleichzeitig SH gibt (CAREN). LEVINE und andere Forscher fanden diese Potenzierung nur mit sehr hohen toxischen Dosen. Letzteres stimmt mit der klinischen Erfahrung überein, dass bei den meisten schweren Diabetikern die Insulindosis durch gleichzeitige SH-Medikation nicht herab-

gesetzt werden kann. Wir dürfen also behaupten, dass die Hemmung der Insulinase nur wenig, wenn überhaupt eine Bedeutung für die SH-Wirkung hat.

Ad 5) Wenn auch unsere Arbeit nicht so weit in das Gebiet der Biochemie hinein führen wird, so sollen doch hier zusammenfassend die Ergebnisse der Enzymforschung gestreift werden, die den Einfluss von SH auf verschiedene Enzyme klarstellen. Besonders interessieren hier Enzyme, die die Glukoseausschleusung aus der Leber regeln. Kürzlich erforschten WALLENFELS (62, 63), CREUTZFELD und SUMM (60) die Enzyme in Leberpunktaten von Diabetikern und fanden die Glukose-6-Phosphataseaktivität auf 373 % erhöht.

Die Insulin- bzw. D 860-Behandlung reduzierte diese Überaktivität auf nahezu normale Werte. Da nun andere Enzyme die Glukoseausschwemmung ebenso wie die Glukose-6-Phosphatase kontrollieren können, sieht man die Schwierigkeiten in der Beurteilung von Experimenten auf dem Enzymgebiet. So könnte z.B. die Hemmung der Phosphoglukomutase oder der Phosphorylase, die im Zusammenhang mit dem Glukagoneffekt diskutiert wird, für einen ähnlichen Allgemeineffekt verantwortlich sein. Oder das Stoffwechselgleichgewicht könnte durch Zunahme der Enzyme, die Glukose-6-Phosphat in die Glykolyse (Phosphoglukoseisomerase) oder in den HORECKER-shunt (Glukose-6-Phosphatdehydrogenase) bringen, verändert werden. WALLENFELS beobachtete eine Beeinflussung von DPN- bzw. TPN-abhängigen Enzymen und schlug einen konkurrierenden Effekt von Co-Enzymen und SH als Arbeitshypothese vor. Bei der kritischen Betrachtung kommen auch hier Bedenken, ob die SH-Konzentrationen, mit denen z.B. WALLENFELS die Enzyme in vitro beeinflussen konnte, in vivo erreicht werden können.

Ad 6) Als Wirkungsmechanismus der Sulfonylharnstoffe wird ferner eine unmittelbare Stoffwechselwirkung am intakten Organismus, wie an isoliertem Gewebe, sowohl peripher als auch zentral - in der Leber - diskutiert. Die etwas verwirrende Vielfalt der Forschungsergebnisse, die über den Einfluss von SH bzw. Insulin auf Muskel und Leber in vitro und in vivo vorliegen, kann folgendermassen umrissen werden: Nach Insulin kann die Hauptwirkung (= verminderte Glukoseausschwemmung, Glykogenspeicherung und der Einbau von Glukose -C<sub>14</sub> in Fettsäure) im Muskel- und Fettgewebe, nach SH - mit zusätzlicher Abnahme der Ketogenese - vor allem in der Leber beobachtet werden. Dabei ist zu beachten, dass die Stoffwechselwirkung von peripher gespritztem Insulin anders sein muss, als die des im Körper selbst produzierten, das physiologisch zunächst in die Leber gelangt. Im ersten Fall findet sich eine grössere periphere AV-Glukosedifferenz.

- Die Wirkung der SH im peripheren Gewebe wurde - neben Bestimmungen des C<sub>14</sub>-Glukoseverhaltens - durch Messung der AV-Glukosedifferenz, als gut fundierte Methode zur Prüfung der Wirkung von injiziertem Insulin, erforscht. Hierüber

arbeiteten vor allem ASHMORE (4, 5) bzw. GOLDNER (25, 26) und RECENT (53), sowie MADISON (44, 45) und UNGAR. Nach Insulin wurde mehr  $C_{14}$ -Glukose in Muskelglykogen eingebaut als nach SH, nach letzterem wieder mehr als bei den Kontrollen (ASHMORE).

- Die Leberwirkung erforschten unter anderem ANDERSON (2, 3) und PURNELL (52). ASHMORE fand mit dem Lebervenenkatheter bei gleicher Blutzuckerhöhe eine geringere Glukoseausschwemmung in der Hypoglykämie nach SH im Vergleich zu Insulin. Das Leberglykogen war nach SH im Vergleich zu Insulin vermehrt.  $C_{14}$ -Versuche zeigten eine entsprechende Fettsäurekonzentration in der Leber.

Die Diskrepanz in den Ergebnissen der Stoffwechseluntersuchungen ist nach Beachtung der Behandlungsdauer und -intensität, Einheitlichkeit des Tiergutes und dessen Ernährungszustandes, sowie präziserer Versuchszeitbestimmungen sicher nicht so stark zu bewerten, als es der erste Eindruck der Literatur erscheinen lassen will.

Überblickt man die Theorien über den Wirkungsmechanismus von D 860 (: die Stimulierung der Insulinproduktion und -sekretion, die Schädigung der A-Zellen der Langerhans'schen Inseln, die Beeinflussung anderer innersekretorischer Drüsen mit insulinantagonistischen Hormonen oder deren Hormone selbst, die Hemmung des Enzyms Insulinase oder Beeinflussung der Aktivität anderer Enzyme und schliesslich die "periphere" und "zentrale" Stoffwechselwirkung von D 860) mit dem Für und Wider der Diskussion, so muss man zugeben, dass möglicherweise mehrere Faktoren den D 860-Effekt bewirken.

Die Bauchspeicheldrüse (evtl. auch Leber) nimmt dabei eine zentrale Stellung ein:

Bei eviszerierten Hunden, Kaninchen und Ratten konnte man weder eine Blutzuckerwirkung mit SH allein, noch eine Verstärkung der Insulinwirkung erzielen. Bei leberlosen Tieren mit intaktem Pankreas war jedoch die SH-Gabe von einer Hypoglykämie gefolgt. Bei pankreatektomierten Tieren und - um das Problem weiter einzuengen - schwer alloxandiabetischen Tieren fanden die meisten Autoren keine Wirkung, während von anderen leichte bis mässige BZ-Senkungen beobachtet wurden (HOUSSAY (27-31), BECKER (8).) Dieser Unterschied kann mit der Dosis erklärt werden, die im letzten Falle ziemlich hoch sein musste (0,8 bis 1,5 g/kg), um den Blutzucker zu reduzieren. Diese Beobachtungen bekräftigen die Wichtigkeit eines intakten inkretorischen Pankreas für die BZ-senkende Wirkung von SH. Einige Ergebnisse scheinen zwar zusätzlich anzuzeigen, dass die Wirkung von zugeführtem Insulin durch SH etwas erhöht wird. Aber nur in einigen Fällen von menschlichem Diabetes wurde diese Wirkung mit therapeutischen Dosen beobachtet. Sie ist daher wohl ohne Belang. (siehe S. 10).

### 3) PROBLEMSTELLUNG

Fassen wir zusammen:

Über die Einflüsse der neuen Antidiabetika auf die A-Zellen wird die Diskussion ruhiger. Glukagon und Insulinase werden zunehmend als nicht essentiell bzw. spezifisch für deren Wirkung angesehen. Bei dem gegenwärtigen Stand der Forschung gewinnt eine Frage, die auch für unsere Arbeit den Anstoss gegeben hat, immer mehr Interesse, nämlich die Frage, wie die SH die B-Zellen der Langerhans'schen Inseln beeinflussen.

Eine zunehmende Anzahl von Untersuchern nimmt bei dem histologischen Bild der B-Zelldegranulierung eine Stimulierung der B-Zellen durch die Antidiabetika und eine Insulinmehrsekretion an. (1, 11, 19, 20, 21, 42). Von anderen wird die Degranulierung als Funktionsruhe gedeutet (14, 49).

Entsprechende Beziehungen zwischen histologischem Bild und Funktion sind uns von der Nebennierenrinden-, Hypophysen- und besonders von der Epithelkörperchen-Forschung her bekannt; bei letzteren z.B. behaupten die Morphologen, wasserhelle Zellen entsprächen dem Stapelungsstadium, andere deuten sie als Anzeichen einer Funktionsruhe bzw. Degeneration. Hier bestehen demnach in der funktionellen Deutung (pathologisch-) anatomischer Beobachtungen noch Widersprüche.

### 4) VERSUCHSANORDNUNG

Bei der Versuchsanordnung wurde davon ausgegangen, dass die Applikation einer Substanz mit insulinähnlicher Wirkung über längere Zeit zu einer Inaktivität der insulinproduzierenden Zellen führen müsste. Man beobachtet nämlich bei Tieren, denen man fortlaufend Insulin injiziert hatte, einen Rückgang der eigenen Insulinproduktion, gefolgt von einer Inaktivitätsatrophie der B-Zellen (sogen. Insulindiabetes).

Nach bisherigen Forschungsergebnissen bewirken die Sulfonylharnstoffe mit einer einzigen Dosis einen Rückgang des Insulingehaltes in dem Pankreas von Hunden und Kälbern (ROOT (55), PFEIFFER (51), BÄNDER (7). Längere Behandlung liess den Zustand nicht bestehen; Die Bauchspeicheldrüse erlangte wieder normale Insulinkonzentration (ROOT).

Bei Kaninchen, die fünf, bzw. acht Wochen lang täglich D 860 erhalten hatte, wurde im Laufe und am Ende des Versuches

- 1) die Kohlenhydrattoleranz mit Hilfe von Glukosebelastungen,
- 2) das Verhalten des BZ-Pegels während des Tages durch Tagesprofile und
- 3) die Histologie der Langerhans'schen Inseln untersucht.

Darüber hinaus wurden

- 4) histochemische Untersuchungen über das Verhalten des Inselzinks in Bezug auf Menge und zeitliche Schwankungen angestellt, das nach Beobachtungen aus den letzten Jahren - wenigstens beim Kaninchen - parallel zu dem Verhalten des in den Inseln vorliegenden Insulins läuft (48). (Genauer S. 15).

Als Vorversuch wurde bei jedem Tier eine (Vor-)Glukosebelastung, meist doppelt, durchgeführt. Der Grundgedanke war, so gleichsam die Standardkurve für jedes Tier zu erhalten und damit eine Vergleichsmöglichkeit mit den Belastungen während des Versuches zu schaffen.

Jeden Tag wurde frühmorgens eine frische Infusionslösung bereitet und den Kaninchen die blutzuckersenkende Substanz in der Magensonde gegeben.

- Alle acht Tage wurden die Tiere vor der Zubereitung der Lösung gewogen, um danach die Infusionsmenge für die folgende Woche korrektiv zu errechnen.

- Alle 14 Tage vom Versuchsbeginn an wurde ein Tages-BZ-Profil bestimmt, nach fünf bzw. acht Wochen eine Glukosebelastung durchgeführt. Dabei wurde zwei Tage vorher und drei Tage während des Versuches das Präparat abgesetzt, am dritten Tag der erste und am fünften Tag der zweite Teil der Glukosebelastungen vorgenommen.

Jeweils anschliessend an die Blutentnahme wurden die Zuckerwerte nach Hagedorn-Jensen bestimmt.

- Am Schluss des Versuches, d.h. einige Stunden nach der letzten, vier bzw. acht Wochen dauernden Sondierung, wurden die Tiere, die für die kombiniert histologisch-histochemischen Untersuchungen vorgesehen waren, der später beschriebenen Operation unterzogen.

- Bei Kaninchen, die für die Ausführung einer Schlussglukosebelastung (nach acht Wochen Behandlungsdauer) bestimmt waren, wurde einige Stunden nach deren Ausführung an die Abnahme der letzten Blutzuckerprobe auch eine histologische und histochemische Untersuchung angeschlossen. Damit war das Tiergut vollkommen ausgewertet.

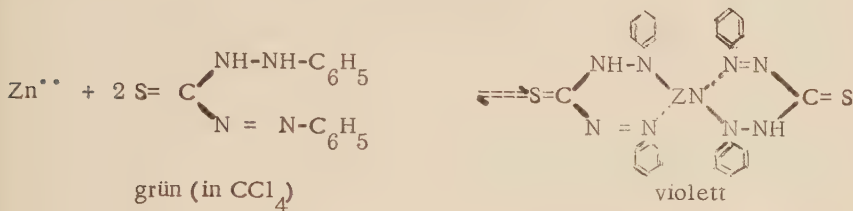
Abschliessend wird eine schematische Übersicht des Versuchsganges gegeben, bei der alle Protokolle auf den gleichen Sondierungsbeginn ausgerichtet wurden (Abb. 1, S. 20).

##### 5) THEORETISCHE VORBEMERKUNGEN ZUR HISTOCHEMISCHEN METHODE

Diphenylthiocarbazon oder Dithizon  $\text{S}=\text{C} \begin{array}{l} \text{NH-NH-C}_6\text{H}_5 \\ \text{N}=\text{N}-\text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$  findet Anwendung zur

kolorimetrischen Bestimmung von Spuren verschiedener Schwermetalle. Man weiss schon relativ lange, dass durch solche komplexbildenden Reagentien Reaktionen bestimmter Metalle mehr oder weniger spezifisch gestaltet werden können. Hierbei dient Dithizon der histochemisch-quantitativen Anfärbung des in den B-Inselzellen enthaltenen Zinks.

(Die Reaktion mit Zink verläuft folgendermassen:



Die Gleichung geht quantitativ nach rechts, wenn ein leichter Dithizonüberschuß vorhanden ist).

Besonders ausgeprägt findet sich das Zink in den B-Zellen der Kaninchen, weshalb diese zu den Versuchen herangezogen wurden. Die anderen in den Inselzellen vorkommenden bindungsfähigen Metalle Pb, Cd, Co und Ni fallen hier nicht ins Gewicht, weil ihre Gesamtheit sich zur Zinkmenge, wie Untersuchungen zeigten, etwa wie 1 : 100 verhält.

(Nun reagieren zweiwertige Kationen wie  $\text{Pb}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Cd}^{++}$ ,  $\text{Ni}^{++}$  und  $\text{Co}^{++}$  nicht gut in saurer, vollständig aber in schwachalkalischer Lösung mit Dithizon. Auch für diese Forderung bietet der pH-Wert im Blut und in den Geweben günstige Bedingungen).

Bei der mikroskopischen Untersuchung nativ mit Dithizon angefärbter Langerhans'schen Inseln findet man kleine rotviolette Granula in den B-Zellen, die nahezu alles Insulin und den Grossteil des Zinks enthalten. MASKE zeigte, dass sehr enge Beziehungen zwischen dem Insulin- und Zinkgehalt der Langerhans'schen Inseln bestehen. Die Modellvorstellung über den Wirkungsmechanismus des Dithizons ergibt etwa folgendes Bild: Das Zink fixiert das Insulin an die Proteine der Granula. Dithizon mit seiner grösseren Affinität zu Zink verdrängt unter Farbkomplexbildung das Insulin vom Zink. Es bildet sich Zinkdithizonat. Dithizon stellt somit einen empfindlichen Indikator für funktionelle Veränderungen der B-Zellen dar, einen noch empfindlicheren, wie sich zeigte, als ihn die Granulafärbung mit der histologischen Differentialfärbung bildet. Denn nicht nur die morphologischen Veränderungen werden mit dieser Methode besser mit dem Auge verfolgbar, mit ihr sind auch, wie MASKE feststellte, funktionelle Veränderungen in den zinkge-

färbten Granula zeitlich vor den mit der anderen Methode nachweisbaren Granula darstellbar.

Wird die Insulinsekretion forciert, können nur kleine Mengen Zink in den Inseln nachgewiesen werden. Auch mit der histologischen Methode zeigt sich das in einer Degranulierung. Wird vom Organismus weniger Insulin gebraucht, ist mehr Zink nachweisbar.

Um Anhaltspunkte für die Insulinmenge in einem Moment des Funktionszyklus an histologischen Gefrierschnitten zu erhalten, wurde daher die Dithizonfärbung als histochemische Methode angewandt. Sie hat allerdings den Nachteil, dass sich die Färbung nur sehr begrenzt (einige Stunden) hält und man daher, um stichhaltige Vergleiche mit späteren Präparaten ziehen zu können, das Bild der Gefrierschnitte durch Photos fixieren muss.

## II. MATERIAL UND METHODEN

### 1) VERSUCHSTIERE

Als Versuchstiere dienten 22 mischrassige Kaninchen beiderlei Geschlechts, deren Gewicht bei Versuchsbeginn durchschnittlich 2739 g betrug und von 1940 g bis 3640 g reichte. Die Tiere wurden getrennt in geräumigen Ställen gehalten. Das Futter bestand anfangs aus trockenem Winterfutter (Hafer und gelagerten Rüben). Nach achttägiger Versuchsdauer war die jahreszeitlich bedingte Umstellung auf Grünfutter notwendig (frisch gemähtes, einige Tage gelagertes Wiesenfutter, Hafer, Rüben), die von allen Tieren gut vertragen wurde.

### 2) LÖSUNGEN

Die blutzuckersenkende Substanz D 860 ist N (4-Methylbenzolsulfonyl) -N'-butylharnstoff.

Die Formel lautet  $\text{CH}_3 \text{—} \text{C}_6\text{H}_4 \text{—} \text{SO}_2 \text{NH—CO—NH—R}_3$  ( $\text{R}_3 = \text{n-butyl}$ ).

Physikalisch und chemisch ist diese Substanz folgendermassen charakterisiert: Sie ist weiss, kristallisiert in Spiessform, ihre Summenformel ist  $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{N}_2\text{S}$ , ihr Molekulargewicht 270,24 und ihr Schmelzpunkt  $126^\circ$ .

D 860 ist praktisch wasserunlöslich, bildet jedoch gut lösliche Alkalisalze. Nach der oralen Applikation der Reinsubstanz (in Tabletten) wird entsprechend der verfügbaren Alkalimenge im Darm lösliches Salz gebildet und dieses dann resorbiert.

Jeden Morgen vor der Duodenalsondierung wurde eine D 860-Lösung frisch zubereitet. Da jedes Tier 0,5 g Substanz je kg Körpergewicht erhalten sollte, wurden

die Gewichte aller Tiere addiert. Daraus wurde die nötige Gesamtmenge der Substanz errechnet und ausgewogen. Durch Hinzugabe einer in Überschuss berechneten Menge von Natriumbikarbonat wurde mit aqua bidest. eine konzentrierte Natriumsalzlösung von D 860 bereitet. Jedes Tier sollte etwa maximal 20 ml Lösung mit der Duodenalsonde infundiert bekommen; deshalb wurde für das schwerste Tier die genaue Konzentration einer Lösung berechnet, die bei vorgeschriebener Dosierung 20 ml ergab; auf diese Konzentration brachte man die Gesamtlösungsmenge. Da jede Woche alle Tiere gewogen wurden, wurde jeweils die Dosis von D 860 für jedes Tier gemäss der Gewichtsveränderung neu korrigiert.

Die Kontrolltiere erhielten 15 ml 0,9 %-ige physiologische Kochsalzlösung in gleicher Weise wie die Versuchstiere mit der Duodenalsonde eingeflösst. Die Dithizonlösung zur intravitalen Anfärbung des Zinkes wurde nach folgendem Rezept zubereitet:

100 mg Dithizon (Merck, Darmstadt) (= Menge für 1 kg Kaninchen) werden in 1 ml ammoniakalischen Alkohol (1 ml Aethanol + 4 Tropfen conc.  $\text{NH}_4\text{OH}$ -Lösung) gelöst und die konzentrierte Lösung auf 20 ml mit aqua dest. verdünnt.

### 3) DUODENALSONDIERUNG

Die Tiere wurden jeden Morgen um die gleiche Zeit sondiert. Dazu wurden sie in den Hasenkasten gesetzt, der eine bequeme Handhabung der Tiere erlaubte. Als Sonde diente ein Tiemann-Katheter Nr. 9, in den hinten eine Metallolive eingesetzt wurde, um eine 20ccm Rekordspritze anschliessen zu können. Als Kiefersperre wurde ein etwa 7 cm langes, rundes Eichenholzstäbchen ( $\varnothing$  1 1/4 cm) verwendet, das in der Mitte der Längsseite eine Durchbohrung für den Katheter auswies. Die Sondierung wurde folgendermassen ausgeführt: In das Maul des Tieres wurde mit der linken Hand leicht drehend die Kiefersperre hinter die vorderen Schneidezähne eingeführt. Im allgemeinen gewöhnten sich die Tiere schnell an diese tägliche Prozedur, so dass sie später nahezu von selbst mit ihren Zähnen das Hölzchen fest umfassten. Darauf wurde von oben sanft mit der rechten Hand der Hasenschädel umschlossen, um mit Daumenballen und Mittelfinger den Sitz der Kiefersperre zu sichern. Daumen und Zeigefinger hielten später die Olive der eingeführten Sonde, die mit der linken Hand locker, aussen mit Wasser angefeuchtet, durch die etwas paramedian sitzende Öffnung geschoben wurde. Die Tiere gewöhnten sich geduldig auch bald daran. Nur anfangs war die Gefahr einer Trachealsondierung mit den entsprechenden Folgen gegeben. Zur Kontrolle des richtigen Sitzes der Sonde wurde stets die Olive ans Ohr gehalten, um eventuelle Atemgeräusche nicht zu überhören; dann wurde sie mit einer Speichelmembran verschlossen, um an ihrem ruhigen Verharren die Lage im Duodenum bestätigt zu sehen. - Weitere Zeichen des richtigen Vorgehens waren leichtes Gleiten beim

tieferen Einführen und gelegentliches Austreten des grünflüssigen Darminhaltes aus der Sonde. Nun setzte die linke Hand auf die fixierte Olive die Spritze auf. Beim Spritzen empfahl es sich, zuerst etwas zu aspirieren, gleichmässig ruhig einzuspritzen (auf die Trachea überträgt sich ein typisches Einstromgeräusch) und anschliessend den Katheter mit aufgesetzter Spritze schnell herauszuziehen, damit die Flüssigkeitssäule im Katheter nicht abreisst und beim Vorbeistreichen der Sonde an der Epiglottis nichts aspiriert werden kann. Schliesslich gibt das Tier dann meist von selbst das Kieferhölzchen wieder frei. Die Spritze und der Katheter werden nach jeder Sondierung zur Reinigung mit 0,9 %-iger NaCl-Lösung durchspült und danach mehrmals Luft durch den Katheter geblasen, um auch bei der Sondierung des nächsten Kaninchens jede Aspiration von Flüssigkeit zu vermeiden.

#### 4) GLUKOSEBELASTUNGEN

Die Glukosebelastungen sollten, wie erwähnt, einen Einblick in mögliche Veränderungen der Blutzuckerregulierung im Laufe und am Ende der D 860-Behandlung verschaffen.

So wurden im Versuchsverlauf drei Arten von Glukosebelastungen durchgeführt:

- 1) Vorglukosebelastungen, um (individuelle) Kontrollkurven zu erhalten,
- 2) Zwischenglukosebelastungen nach 5-wöchiger D 860-Behandlung u.
- 3) Endglukosebelastungen nach 8-wöchiger D 860-Behandlung.

Alle Glukosebelastungen wurden doppelt mit eintägigen Zwischenräumen durchgeführt. Zwei Tage vor der Glukosebelastung wurden die Tiere nicht mehr sondiert, um so einen länger anhaltenden unmittelbaren Effekt der Substanz auszuschliessen und nur die bleibenden Veränderungen auf Grund der chronischen D 860-Zufuhr festzustellen.

Am Morgen vor der Glukosebelastung erhielten die Tiere kein Futter. Nach dem Wiegen wurde die Menge der zu spritzenden 20 %-igen sterilen Traubenzuckerlösung berechnet. Pro 1 kg Kaninchen hat sich dafür die Menge von 1 g Traubenzucker, also 5 ml Lösung, bewährt. Dann wurde im vorher erwähnten Hasenkasten nach Anstechen einer Ohrvene mit einer 0,1 cm<sup>3</sup>-Pipette das Blut für die BZ-Nüchternwerte zweifach abgenommen, die Glukoselösung in eine Ohrvene des anderen Löffels eingespritzt und nach 30, 60, 120 und 150 Minuten am zuerst gestochenen Ohr weitere Blutproben für die Zuckerbestimmung abgenommen. Wesentlich ist dabei eine ruhige Behandlung der Tiere, damit die Blutzuckerwerte nicht durch eine Excitation beeinflusst werden. Um die Gewinnung einer genügend grossen Blutperle aus der Ohrvene für die vielen weiteren Blutentnahmen von 0,1 cm<sup>3</sup> zu sichern, ist eine sorgsame Pflege der Hasenlöffel ratsam. Vor jedem Versuch müssen diese auf der Aussenseite mit der Schere enthaart werden. Eine kurze leichte Massage vor jedem Einstich sorgt für eine Hyperämie in den Venen. Der

Einstich sei kurz mit einer kleinen Injektionsnadel (Nr. 16), die mit leicht hebelnder Bewegung wieder zurückgezogen wird. Nach Versuchsende wurden die Löffel sorgfältig mit Hirudoidsalbe eingerieben.

Der Blutzucker wurde nach HAGEDORN-JENSEN in der Abwandlung nach DIRR bestimmt. (Quantitatives Arbeiten in der Klinik, 2. Aufl. S. 118).

Die Ergebnisse finden sich auf S. 21, ihre Besprechung auf S. 47.

### 5) BLUTZUCKERTAGESPROFILE

Nach der Duodenalinfusion von D 860 wurde die Wirkung der BZ-senkenden Substanz am Blutzuckerspiegel über einen Tag verfolgt.

Vom Tag der ersten Sondierung an gerechnet, wurden diese Tagesprofile etwa alle vierzehn Tage durchgeführt.

Den Tieren wurde morgens zunächst zweimal eine Nüchternblutzuckerprobe abgenommen. Daraufhin erhielten sie zur gewohnten Zeit mit der Duodenalsonde ihre D 860-Lösung infundiert. - Während des Tages wurde ihnen das übliche Futter angeboten. - Vom Sondierungszeitpunkt an gerechnet, wurden nach 1 1/2, 3, 4 1/2, 6 und 7 1/2 Stunden Blutproben zur Zuckerbestimmung abgenommen. Nach der Bestimmung der Zuckerwerte erhielt man eine Tagesprofilkurve, die sich aus sechs Werten zusammensetzte, dem gemittelten Doppelnüchternwert und den Werten 1 1/2, 3, 4 1/2, 6 und 7 1/2 Stunden nach der Sondierung.

### 6) HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

Untersucht wurden 15 Kaninchen (10 Versuchstiere und 5 Kontrollen). Eine Gruppe wurde unmittelbar (d.h. 5-6 Stunden) nach der letzten Sondierung getötet (Nr. 660, 671 und 674), eine andere nach Abnahme des letzten (150') Wertes der Schlussglukosebelastung (auch wieder 5-6 Stunden darauf), d.h. am fünften Tag nach der letzten Gabe von D 860.

## ÜBERSICHT DES ARBEITSGANGES

Behandlungstage →

Tier-

| Nr. | 1 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | 20 | 22 | 24 | 26 | 28 | 30 | 32 | 34 | 36 | 38 | 40 | 42 | 44 | 46 | 48 | 50 | 52 | 54 | 56 | 58 | 60 | 62 | 64 |
|-----|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 657 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 618 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 658 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 659 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 660 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 662 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 663 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 664 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 665 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 666 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 667 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 668 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 669 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 670 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 671 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 672 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 673 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 674 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 675 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 676 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 661 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 655 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 677 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 678 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| 647 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |

Legende: Nr. = Versuchstier

Nr. = Kontrolltier

+ = gestorben

x = getötet

= typische Glukosebelastung (5 Tage Sondierung abgesetzt, am 3. und 5. Tag

Glukosebelastungen)

= Tagesprofil

Abbildung 1

Bei allen Tieren wurde die Narkose im Hasenkasten mit der Injektion von 1-2 cm<sup>3</sup> einer 5%-igen Evipannatriumlösung in eine Ohrvene eingeleitet. Nachdem das Tier ganz entspannt war, wurde es herausgenommen und rücklings auf ein Operationsbrett gelegt, die vier Pfoten in Abduktionsstellung fixiert und der Bauch rasiert. Unter sorgfältiger Fortführung der Narkose legten wir mit einem Längsschnitt links etwa 2 cm paramedian den Bauchsitus frei. Manchmal war eine kombinierte histologische und histochemische Untersuchung vorgesehen. In diesen Fällen teilte sich der weitere Operationsgang nach zwei Richtungen hin auf:

- 1) Handelte es sich darum, nur histologische Resultate der Pankreas zu erhalten, so wurde die ganze Bauchspeicheldrüse nach sorgfältiger Unterbindung aller Gefäße aus ihrem Bett gelöst und herauspräpariert. Zur Fixierung wurde sie in Bouin'sche Lösung (für 2 - 24 Stunden) gelegt. (Siehe ROMEIS: Mikroskopische Technik, S. 69). Als Vorbereitung zur histologischen Aufarbeitung wurden die Organstücke wie üblich in Paraffinblöcke eingebettet und schließlich Mikrotomschnitte von 4  $\mu$  Dicke angefertigt. Die Schnitte wurden mit der Azan-Aldehydfuchsinfärbung nach GOMORI in der Modifikation nach MASKE gefärbt und in Paraffin eingebettet.
- 2) Beabsichtigten wir, histologische und histochemische Pankreaspräparate zu erhalten, so wurde das betreffende Pankreas herausluxiert, die Caudagefäße sorgfältig doppelt ligiert und durchschnitten, die Cauda abpräpariert und zur Fixierung in Bouin'sche Lösung eingelegt. (Weitere Aufarbeitung wie oben). - Der Pankreaskopf wurde zurückgelegt, der Abdominalschnitt mit Situationsnähten verschlossen und die Narkose fortgeführt. -

Jetzt begann die eigentliche

## 7) HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNG

In eine der Venen des anderen Löffels wurde die kurz vor der Operation bereitete Dithizonlösung (siehe S. 17) langsam injiziert, so dass das Tier etwa 100 mg Dithizon/kg Körpergewicht erhielt. Die Dauer der Operation bis zu diesem Zeitpunkt war ziemlich konstant etwa 35 Minuten. Nun warteten wir einige Minuten unter Fortführung der Narkose, eröffneten dann den vernähten Abdominalschnitt und präparierten das makroskopisch rosa gefärbte Pankreas heraus. (Das Mesenterialfett imponierte nach der Dithizoninjektion durch eine Grünfärbung). Das Tier wurde gleich darauf durch Absetzen der Narkosespritze und durch Einblasen von Luft in die Ohrvene getötet; das Pankreasstück wurde sofort auf einem Gefriermikrotomen mit CO<sub>2</sub> vereist und Gefrierschnitte von 10 - 15  $\mu$  Dicke angefertigt. Die Fixierung erfolgte durch kurzes Behandeln der Präparate mit Osmiumtetroxyddämpfen, die Einbettung in Karion. Nur gelegentlich führten wir eine zusätzliche

Kemfärbung mit Hämalaun durch. Die Schnitte wurden mit Rücksicht auf ihre auf 8 Stunden beschränkte Haltbarkeit sofort durchmustert und bei konstantem Okular (10-fach) und verschiedener Objektivwahl und Belichtungszeit (unter Verwendung einer konstant-starken Unterfeldbeleuchtung) die konstantesten und eindrucksvollsten Befunde in Farbphotos festgehalten.

### III. ERGEBNISSE

#### 1) VERHALTEN DES KÖRPERGEWICHTES

Jedes Tier wurde wöchentlich gewogen, um den Einfluss der D 860-Behandlung auf das Körpergewicht kontrollieren zu können. - Nach Aufzeichnung der beiden zu vergleichenden Kurvenbündel - als Abszisse wählten wir die Zeit  $t$  (in Tagen), als Ordinate das Gewicht ( $g$ ) - ergab sich jedoch nach Mittelung der Kurvenbündel und Berechnung des "mittleren Fehlers  $\sigma$ " kein signifikanter Unterschied. Auf die Wiedergabe der Kurven wurde deshalb hier verzichtet. Es kann geschlossen werden, dass D 860 das Körpergewicht der Versuchstiere bei der hier gegebenen Dosis (0,5 g/kg/die) über einen Zeitraum bis zu 8 Wochen, nicht signifikant beeinflusst.

#### 2) GLUKOSEBELASTUNGEN

Die Ergebnisse finden ihren klarsten Ausdruck in Abb. 4, S. 26. Dort sind die Mittelwertskurven aufgezeichnet und zwar:

1. Der 5-Wochen-Doppelglukosebelastungen, d.h. also der Belastungen, die nach 5-wöchiger D 860-Behandlung ausgeführt wurden. Diese Kurven gingen aus 10 (Doppel-)Versuchen hervor;
2. der 8-Wochen-Doppelglukosebelastungen. Dieser Kurve liegen 12 (Doppel-)Versuche zugrunde;
3. der Kontrollen. Die 4-Wochen- (bestehend aus 8) und die 8-Wochen-Kontrollen (bestehend aus 7 Doppelbelastungen) wurden mit 18, meist doppelt ausgeführten Vorglukosebelastungen zusammengefasst, da sie identisch verliefen. So entstand die Kontrolldurchschnittskurve aus 33 Doppelversuchen.

Wie zu ersehen ist, liegen alle Mittelwertskurven nahe beieinander, so dass sich erübrigt, die "mittlere Fehlerbreite" der jeweiligen Kurvenbündel einzuzeichnen.

### 3) BLUTZUCKERTAGESPROFILE

Hier finden wir ähnliche Verhältnisse wie bei den Glukosebelastungen insofern, als auch hier die Mittelwertskurven der Tagesprofile

1) nach 2 Wochen bei 10 Versuchen,

2) nach 4 Wochen bei ebenfalls 10 und

3) nach 6 bzw. 8 Wochen, zusammengefasst aus jeweils 6 Versuchen, ohne signifikante Unterschiede verlaufen (Abb. 5, S. 32 ).

So wurde - wie oben - ebenfalls auf Einzeichnung der "mittleren Fehlerbreite" verzichtet. - Auch hier fasten wir die Mittelwertskurven von den 2-, 4-, 6- und 8-Wochen-Tagesprofilkontrollen aus 8, 3, 2 und 2, also insgesamt 15 Versuchen, zusammen. Alle Berechnungen, auch die für die Glukosebelastungen, finden sich auf Tabelle Abb. 3 bzw. 2, S.28, 29 bzw. S.24, 25.

#### Erläuterungen zur Blutzucker- und Tagesprofiltablette

S = Summe

n = Anzahl der Versuche

m = Mittelwert

——— und ----- durchgestrichen bedeutet, dass diese Kurven wegfallen mussten.

\_\_\_\_\_ : weil die Titration misslang;

-----: weil die Kurve aus anderen Gründen offensichtlich wertlos ist.

Das war zu erkennen: 1) an extrem hohen 30' - Gipfelwerten  
2) an sehr niederen 30' - Gipfelwerten  
3) an hohen Nachschwankungen (von der Excitation der Tiere herrührend).

So fielen weg:

- 1) Bei den Vorglukosebelastungen: 7 Kurven 18 verbleiben
- 2a) Bei der 1. Glukosebelastung : 5 Kurven 10 verbleiben
- 2b) Bei der 1. Glukosebel.-Kontr.: 2 Kurven 8 verbleiben
- 3a) Bei der 2. Glukosebelastung : 2 Kurven 12 verbleiben
- 3b) Bei der 2. Glukosebel.-Kontr.: 1 Kurve 7 verbleiben.

Von den Vorglukosebelastungen wurden einfach ausgeführt:  
Nr. 659, 660, 665, 666, 668, 669, 670 und 672.

## BLUTZUCKERWERTE DER GLUKOSEBELASTUNGEN IN mg%:

## 1) Vorglukosebelastung:

2) Glukosebelastung nach 5-wöchiger  
(=34, 6 $\frac{1}{2}$ , 5 tägiger) Versuchs-  
dauer:

3) 2. Glukosebelastung nach 8-wöchiger  
(=52, 5 $\frac{1}{2}$ , 7 tägiger) Versuchs-  
dauer:

| Tier- |     | Einzelwerte nach $\rightarrow$ (min.) |                 |                 |                 |                 |     |                     |                 |                 |                 |                 |                     |                     |                 |                 |                 |               |     |
|-------|-----|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------------|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------|-----|
| Nr.   | Nü. | 30'                                   | 60'             | 90'             | 120'            | 150'            | Nü. | 30'                 | 60'             | 90'             | 120'            | 150'            | Nü.                 | 30'                 | 60'             | 90'             | 120'            | 150'          |     |
| 618   |     | 85                                    | 264             | 134             | 112             | 115             | 92  |                     |                 |                 |                 |                 | <del>150-270-</del> | <del>220-</del>     | <del>187-</del> | <del>162-</del> | <del>102</del>  |               |     |
| 658   |     | 119                                   | 197             | 163             | 131             | 102             | --  |                     |                 |                 |                 |                 | 130                 | 249                 | 141             | 115             | 117             | 95            |     |
|       |     |                                       |                 |                 |                 |                 |     | 83                  | 201             | 97              | 96              | 105             | 97                  |                     |                 |                 |                 |               |     |
| 659   |     | 66                                    | 224             | 96              | 74              | 128             | 88  | <del>81-103-</del>  | <del>89-</del>  | <del>98-</del>  | <del>97-</del>  | <del>79</del>   | 109                 | 186                 | 105             | 106             | 114             | 114           |     |
| 660   |     | <del>74-280-</del>                    | <del>122-</del> | <del>85-</del>  | <del>146-</del> | <del>102-</del> |     | <del>102-140-</del> | <del>183-</del> | <del>87-</del>  | <del>88-</del>  | <del>----</del> | 116                 | 168                 | 108             | 102             | 100             | 92            |     |
|       |     |                                       |                 |                 |                 |                 |     |                     |                 |                 |                 |                 | 125                 | 194                 | 110             | 93              | 103             | 100           |     |
| 666   |     | 120                                   | 193             | 75              | 70              | 53              | 87  | 91                  | 181             | 119             | 87              | 73              | --                  |                     |                 |                 |                 |               |     |
| 667   |     | <del>144-135-</del>                   | <del>90-</del>  | <del>97-</del>  | <del>82-</del>  | <del>105-</del> |     | 92                  | 160             | 98              | 102             | 104             | 85                  | 87                  | 150             | 101             | 96              | 109           | 94  |
|       |     |                                       |                 |                 |                 |                 |     | 98                  | 170             | 112             | 110             | 96              | --                  | 101                 | 165             | 110             | 103             | 107           | 107 |
| 668   |     | 108                                   | 193             | 112             | 112             | 94              | 100 | <del>144-112-</del> | <del>135-</del> | <del>74-</del>  | <del>80-</del>  | <del>85</del>   | 108                 | 226                 | 129             | 112             | 161             | 100           |     |
|       |     |                                       |                 |                 |                 |                 |     | 115                 | 177             | 98              | 98              | 103             | 97                  | 106                 | 253             | 122             | 103             | 110           | 92  |
| 669   |     | 96                                    | 216             | 120             | 119             | 104             | 104 |                     |                 |                 |                 |                 |                     |                     |                 |                 |                 |               |     |
| 670   |     | 145                                   | 184             | 93              | 85              | 105             | 100 |                     |                 |                 |                 |                 |                     |                     |                 |                 |                 |               |     |
| 671   |     | <del>126-141-</del>                   | <del>88-</del>  | <del>72-</del>  | <del>88-</del>  | <del>104</del>  |     | 139                 | 290             | 196             | 151             | 141             | 125                 |                     |                 |                 |                 |               |     |
| 672   |     | 110                                   | 182             | 112             | 105             | 111             | 104 | <del>117-261-</del> | <del>146-</del> | <del>131-</del> | <del>116-</del> | <del>111</del>  |                     |                     |                 |                 |                 |               |     |
| 674   |     | 108                                   | 189             | 142             | 110             | 79              | 82  | 98                  | 159             | 118             | 96              | 93              | 90                  | 103                 | 194             | 103             | 105             | 108           | 92  |
|       |     | 118                                   | 240             | 177             | 134             | 98              | 101 | 107                 | 198             | 114             | 99              | 104             | 99                  | 120                 | 255             | 165             | 137             | 95            | 91  |
| 675   |     | 94                                    | 171             | 135             | 104             | 81              | 97  | <del>118-290-</del> | <del>192-</del> | <del>130-</del> | <del>121-</del> | <del>104</del>  | 111                 | 238                 | 111             | 100             | 101             | 85            |     |
| 676   |     | <del>128-238-</del>                   | <del>221-</del> | <del>154-</del> | <del>100-</del> | <del>01</del>   |     | 149                 | 201             | 132             | 113             | 109             | 101                 | <del>180-240-</del> | <del>219-</del> | <del>178-</del> | <del>130-</del> | <del>80</del> |     |
|       |     | <del>178-291-</del>                   | <del>137-</del> | <del>140-</del> | <del>140-</del> | <del>08</del>   |     |                     |                 |                 |                 |                 |                     |                     |                 |                 |                 |               |     |

S =

n =

m =

Fortsetzung und

Summe nächste Seite

Abbildung 2a

## BLUTZUCKERWERTE DER GLUKOSEBELASTUNGEN IN mg%

Kontrollversuche

1) Vorglukosebelastung:

(Fortsetzung):

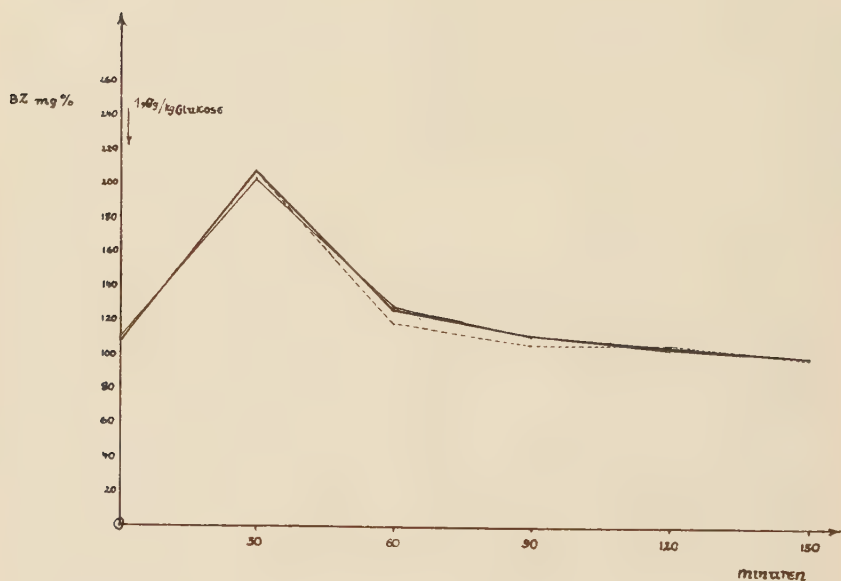
2) 1. Glukosebelastung nach 5-wöchiger (=34, 6 ± 1, 5 tagiger) Versuchsdauer:

3) 2. Glukosebelastung nach 8-wöchiger (=52, 5 ± 4, 7 tagiger) Versuchsdauer:

| Kontroll- | Einzelwerte nach → (min.)    |      |      |      |      |      |                           |      |      |      | Kontrollversuche |      |      |                         |
|-----------|------------------------------|------|------|------|------|------|---------------------------|------|------|------|------------------|------|------|-------------------------|
| Tier-Nr.  | Nü.                          | 30'  | 60'  | 90'  | 120' | 150' | Nü.                       | 30'  | 60'  | 90'  | 120'             | 150' |      |                         |
| 655       | 123                          | 152  | 123  | 123  | 85   | 92   | 100                       | 212  | 136  | 107  | 108              | --   | 105  | 232 131 110 113 105     |
|           | 117                          | 163  | 135  | 124  | 92   | 87   | 118                       | 222  | 133  | 103  | 123              | 107  | 91   | 202 119 153 103 96      |
| 661       | 104                          | 233  | 167  | 110  | 99   | 89   |                           |      |      |      |                  |      |      |                         |
|           | 108                          | 219  | 139  | 108  | 115  | 93   |                           |      |      |      |                  |      |      |                         |
| 662       |                              |      |      |      |      |      | 99--145--94--89--07--81   |      |      |      |                  |      | 114  | 206 150 123 94 94       |
|           |                              |      |      |      |      |      | 182--140--107--94--02--88 |      |      |      |                  |      | 100  | 213 112 101 105 105     |
| 664       | 87--127--65--04--111--104    |      |      |      |      |      |                           |      |      |      |                  |      |      |                         |
| 665       | 57                           | 192  | 75   | 96   | 78   | 89   |                           |      |      |      |                  |      |      |                         |
| 673       |                              |      |      |      |      |      | 143                       | 182  | 125  | 102  | 125              | 92   | 117  | 146 122 117 113 110     |
|           |                              |      |      |      |      |      | 117                       | 214  | 126  | 119  | 98               | 114  | 113  | 198 106 107 111 106     |
| 677       | 97                           | 155  | 119  | 111  | 81   | 76   | 119                       | 251  | 147  | 107  | 111              | 107  | 99   | 316 171 105 109 82      |
|           | 95                           | 187  | 135  | 88   | 83   | 69   | 114                       | 244  | 151  | 109  | 107              | 105  | 101  | 270-162--162--140--119  |
| 678       | 109--100--105--111--110--124 |      |      |      |      |      | 95                        | 173  | 114  | 106  | 108              | 102  |      |                         |
|           | 81                           | 180  | 100  | 97   | 110  | 66   | 106                       | 176  | 102  | 96   | 104              | 95   |      |                         |
| S =       | 1846                         | 3495 | 2095 | 1887 | 1702 | 1632 | 912                       | 1674 | 1034 | 849  | 884              | 722  | 739  | 1513 911 826 748 698    |
| n =       | 18                           | 18   | 18   | 18   | 18   | 18   | 8                         | 8    | 8    | 8    | 8                | 7    | 7    | 7 7 7 7 7               |
| m =       | 1025                         | 1941 | 1163 | 1048 | 946  | 906  | 1140                      | 2092 | 1292 | 1061 | 1105             | 1031 | 1055 | 2161 1301 1180 1068 997 |

Abbildung 2b

## DIE GLUKOSEBELASTUNGSKURVEN (MITTELWERTE)

Abbildung 4

- |       |                                                            |                         |
|-------|------------------------------------------------------------|-------------------------|
| ————  | Nach fünf Wochen Behandlungszeit                           | 10 Versuche ausgeführt  |
| ----- | Nach acht Wochen Behandlungszeit                           | 12 Versuche ausgeführt  |
| ..... | Kontrollen: (von 4 u. 8 Wochen<br>zusammengefasst = 8 + 7) | 15 Versuche             |
|       |                                                            | + <u>18 Vorversuche</u> |
|       |                                                            | 33 Versuche ausgeführt  |

Die für die Glukosebelastungskurve verwendeten abgerundeten Werte  
 Mittelwerte der Kontrollen nach 5 und 8 Wochen plus  
 Vorversuche

|       | Nü.   | 30'   | 60'   | 90'   | 120'  | 150' |                                                                                           |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1)    | 103   | 194   | 116   | 105   | 95    | 91   | : Vorversuche                                                                             |
| 2)    | 114   | 209   | 129   | 106   | 111   | 103  | : 4-Wo. -Kontr.                                                                           |
| 3)    | 106   | 216   | 130   | 118   | 107   | 100  | : 8-Wo. -Kontr.                                                                           |
| <hr/> |       |       |       |       |       |      |                                                                                           |
|       | 323   | 619   | 375   | 329   | 313   | 294  | = s;                                                                                      |
|       | 107,7 | 206,3 | 125,0 | 109,7 | 104,3 | 98   | = m; <u>Mittelwert</u><br>der Kontrollen<br>nach 4 und 8<br>Wochen u. der<br>Vorversuche. |
| <hr/> |       |       |       |       |       |      |                                                                                           |
|       | 109   | 203   | 128   | 110   | 103   | 98   | : 4-Wo. -Vers.                                                                            |
|       | 108   | 207   | 117   | 106   | 106   | 97   | : 8-Wo. -Vers.                                                                            |

## BLUTZUCKERWERTE DER TAGESPROFILE IN mg% NACH EINER BEHANDLUNGSDAUER VON

1) 2 Wochen (=12, 8  $\pm$  1, 1 Tagen)2) 4 Wochen (=38, 8  $\pm$  1, 3 Tagen)

| Tier- Einzelwerte nach → (Stunden) |      |       |     |       |     |       | 2. Tagesprofil |       |     |       |     |       |
|------------------------------------|------|-------|-----|-------|-----|-------|----------------|-------|-----|-------|-----|-------|
| Nr.                                | Nü.  | 1 1/2 | 3   | 4 1/2 | 6   | 7 1/2 | Nü.            | 1 1/2 | 3   | 4 1/2 | 6   | 7 1/2 |
| 618                                | 123  | 76    | 38  | 61    | 76  | 57    | 136            | 62    | 49  | 45    | 44  | 43    |
| 658                                | 126  | 69    | 37  | 66    | 68  | 66    | 133            | 47    | 47  | 56    | 64  | 50    |
| 659                                | 124  | 67    | 40  | 50    | 70  | 91    | 102            | 47    | 56  | 32    | 46  | 64    |
| 660                                | 103  | 103   | 86  | 89    | 56  | --    | 114            | 64    | 42  | 46    | 57  | 92    |
| 666                                | 136  | 97    | 83  | 61    | 49  | 51    |                |       |     |       |     |       |
| 667                                | 134  | 61    | 67  | 48    | 47  | 42    | 153            | 91    | 82  | 59    | 56  | 43    |
| 668                                | 127  | 73    | 41  | 37    | 30  | 63    | 108            | 91    | 66  | 66    | 40  | 57    |
| 670                                | 128  | 61    | 34  | 43    | 41  | 36    | 156            | 111   | 67  | 72    | 60  | 68    |
| 671                                | 103  | 25    | 22  | 5     | 24  | 55    |                |       |     |       |     |       |
| 674                                | 128  | 63    | 78  | 65    | 70  | 65    | 115            | 79    | 42  | 49    | 39  | 29    |
| 675                                | 99   | 81    | 51  | 33    | 45  | 67    | 112            | 38    | 37  | 37    | 40  | 48    |
| 676                                | 121  | 34    | 65  | 69    | 45  | 76    | 100            | 61    | 42  | 46    | 44  | 52    |
| <hr/>                              |      |       |     |       |     |       |                |       |     |       |     |       |
| S =                                | 1228 | 751   | 555 | 563   | 552 | 538   | 1229           | 691   | 530 | 508   | 490 | 546   |
| n =                                | 10   | 10    | 10  | 10    | 10  | 9     | 10             | 10    | 10  | 10    | 10  | 10    |
| m =                                | 123  | 75    | 56  | 56    | 55  | 59,7  | 123            | 69    | 53  | 51    | 49  | 55    |

Abbildung 3a

BLUTZUCKERWERTE DER TAGESPROFILE IN mg%  
NACH EINER BEHANDLUNGSDAUER VON

3) 6 Wochen (=43,8  $\pm$  0,5 Tagen)

4) 8 Wochen (=54,2  $\pm$  2,2 Tagen)

| Tier-<br>Nr. | Einzelwerte nach →(Stunden) |       |    |       |    |       | 4. Tagesprofil |       |    |       |    |       |
|--------------|-----------------------------|-------|----|-------|----|-------|----------------|-------|----|-------|----|-------|
|              | 3. Tagesprofil              |       |    |       |    |       |                |       |    |       |    |       |
|              | Nü.                         | 1 1/2 | 3  | 4 1/2 | 6  | 7 1/2 | Nü.            | 1 1/2 | 3  | 4 1/2 | 6  | 7 1/2 |
| 618          | 117                         | 66    | 51 | 42    | 41 | 41    | 93             | 57    | 45 | 52    | 40 | 51    |
| 658          | 107                         | 57    | 58 | 38    | 52 | 39    | 103            | 30    | 49 | 59    | 42 | 46    |
| 659          | 133                         | 55    | 60 | 42    | 45 | 43    | 129            | 90    | 68 | 45    | 53 | 53    |
| 660          | 124                         | 77    | 49 | 49    | 42 | 43    | 101            | 46    | 41 | --    | -- | --    |
| 667          | 124                         | 70    | 55 | 53    | 49 | 52    | 128            | 75    | 45 | 54    | 58 | 51    |
| 668          |                             |       |    |       |    |       | 100            | 46    | 51 | 54    | 50 | 52    |
| 670          | 118                         | 66    | 58 | 47    | 54 | 52    |                |       |    |       |    |       |

|     |       |      |      |      |      |     |     |      |      |     |      |      |
|-----|-------|------|------|------|------|-----|-----|------|------|-----|------|------|
| S = | 723   | 391  | 331  | 271  | 283  | 270 | 654 | 344  | 299  | 264 | 243  | 253  |
| n = | 6     | 6    | 6    | 6    | 6    | 6   | 6   | 6    | 6    | 5   | 5    | 5    |
| m = | 120,5 | 65,1 | 55,1 | 45,1 | 47,1 | 45  | 109 | 57,3 | 49,8 | 49  | 48,6 | 50,6 |

Abbildung 3b

KONTROLLEN DER TAGESPROFILE IN mg% nach einer Behandlungsdauer von

1) 2 Wochen ( $=12,8 \pm 1,1$  Tagen)

2) 4 Wochen ( $=38,8 \pm 1,3$  Tagen)

| Kontr.- Einzelwerte nach $\rightarrow$ (Stunden) |       |                |      |       |       |       |       |                |     |       |      |       |
|--------------------------------------------------|-------|----------------|------|-------|-------|-------|-------|----------------|-----|-------|------|-------|
| Tier-                                            |       | 1. Tagesprofil |      |       |       |       |       | 2. Tagesprofil |     |       |      |       |
| Nr.                                              | Nü.   | 1 1/2          | 3    | 4 1/2 | 6     | 7 1/2 | Nü.   | 1 1/2          | 3   | 4 1/2 | 6    | 7 1/2 |
| 662                                              | 83    | 111            | 95   | 111   | 103   | --    | 113   | 113            | 62  | 109   | 93   | 55    |
| 663                                              | 96    | 125            | 114  | 106   | 124   | --    |       |                |     |       |      |       |
| 665                                              | 107   | 106            | 94   | 103   | 120   | 95    |       |                |     |       |      |       |
| 672                                              | 104   | 100            | 58   | 86    | 57    | 102   |       |                |     |       |      |       |
| 673                                              | 102   | 66             | 116  | 55    | 55    | 104   | 128   | 94             | 94  | 47    | 81   | 93    |
| 655                                              | 133   | 98             | 101  | 108   | 97    | 132   | 107   | 103            | 92  | 97    | 98   | 102   |
| 677                                              | 102   | 112            | 94   | 91    | 93    | 107   | 101   | 102            | 104 | 95    | 94   | 97    |
| 678                                              | 94    | 96             | 104  | 84    | 92    | 86    | 96    | 100            | 101 | 95    | 103  | 97    |
| 647                                              | 109   | 100            | 110  | 104   | 115   | 104   |       |                |     |       |      |       |
| S =                                              | 828   | 848            | 770  | 793   | 801   | 626   | 304   | 305            | 297 | 287   | 295  | 296   |
| n =                                              | 8     | 8              | 8    | 8     | 8     | 6     | 3     | 3              | 3   | 3     | 3    | 3     |
| m =                                              | 103,5 | 106            | 96,2 | 99,1  | 100,1 | 104,3 | 101,3 | 101,6          | 99  | 95,7  | 98,3 | 98,7  |
|                                                  | 103   | 106            | 96   | 99    | 100   | 104   | 101   | 102            | 99  | 96    | 98   | 99    |

Abbildung 3c

# KONTROLLEN DER TAGESPROFILE IN mg% (Fortsetzung)

nach einer Behandlungsdauer von

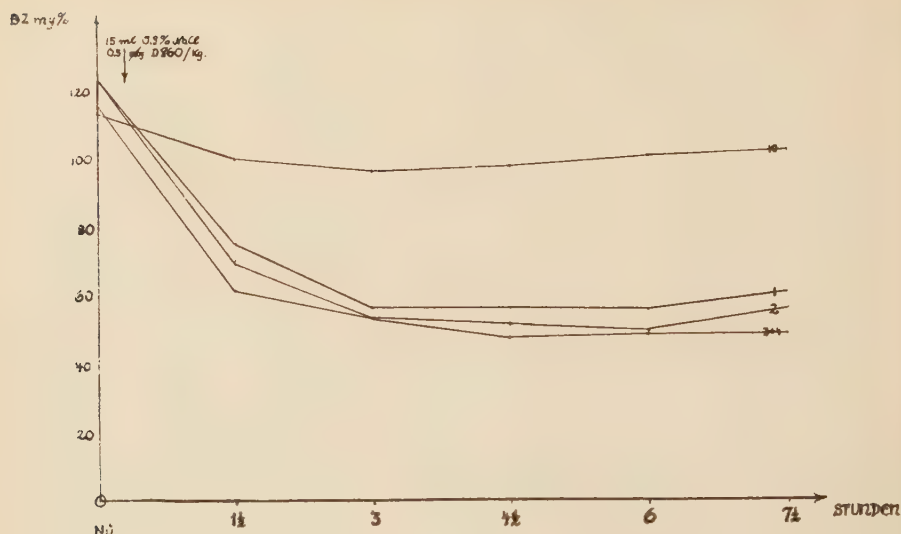
3) 6 Wochen ( $=43,8 \pm 0,5$  Tagen)

4) 8 Wochen ( $=54,2 \pm 2,2$  Tagen)

| Kontr.- Einzelwerte nach → (Stunden) |                |       |      |                |     |       |     |       |      |       |      |       |
|--------------------------------------|----------------|-------|------|----------------|-----|-------|-----|-------|------|-------|------|-------|
| Tier-<br>Nr.                         | 3. Tagesprofil |       |      | 4. Tagesprofil |     |       |     |       |      |       |      |       |
|                                      | Nü.            | 1 1/2 | 3    | 4 1/2          | 6   | 7 1/2 | Nü. | 1 1/2 | 3    | 4 1/2 | 6    | 7 1/2 |
| 662                                  | 124            | 103   | 94   | 105            | 105 | 110   | 126 | 100   | 101  | 101   | 100  | 107   |
| 673                                  | 129            | 90    | 89   | 94             | 107 | 86    | 112 | 88    | 88   | 95    | 89   | 96    |
| S =                                  | 253            | 193   | 183  | 199            | 212 | 196   | 238 | 188   | 189  | 196   | 189  | 203   |
| n =                                  | 2              | 2     | 2    | 2              | 2   | 2     | 2   | 2     | 2    | 2     | 2    | 2     |
| m =                                  | 126,5          | 96,5  | 91,5 | 99,5           | 106 | 98    | 119 | 94    | 94,5 | 98    | 94,5 | 101,5 |
|                                      | 127            | 97    | 92   | 96             | 106 | 98    | 119 | 94    | 95   | 98    | 95   | 102   |

Abbildung 3d

## DIE TAGESPROFILKURVEN (MITTELWERTE)

Abbildung 5

- Die 1. Tagesprofilkurve entstand aus 10 Versuchen  
 — Die 2. Tagesprofilkurve entstand aus 10 Versuchen  
 — Die 3.+4. Tagesprofilkurve entstand aus 12 Versuchen (6+6)  
 — Die Kontrollkurve setzt sich zusammen aus 8+3+2+2 = 15 Versuchen

|                       | Nü.   | 1 1/2 | 3    | 4 1/2 | 6   | 7 1/2               |
|-----------------------|-------|-------|------|-------|-----|---------------------|
| 3. Tagesprofil:       | 121   | 65    | 55   | 45    | 47  | 45                  |
| 4. Tagesprofil:       | 109   | 57    | 50   | 49    | 49  | 51                  |
| S =                   | 230   | 122   | 105  | 94    | 96  | 96                  |
| $(\frac{3+4}{2}) m =$ | 115   | 61    | 53   | 47    | 48  | 48                  |
| Kontrollen:           | 103   | 106   | 96   | 99    | 100 | 104 : nach 2 Wochen |
|                       | 101   | 102   | 99   | 96    | 98  | 99 : nach 4 Wochen  |
|                       | 127   | 97    | 92   | 96    | 106 | 98 : nach 6 Wochen  |
|                       | 119   | 94    | 95   | 98    | 95  | 102 : nach 8 Wochen |
| S =                   | 450   | 399   | 382  | 389   | 399 | 403                 |
| m =                   | 112,5 | 100   | 95,5 | 97,2  | 100 | 101                 |

#### 4) HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

Die Ergebnisse bauen sich auf ein Tiergut von 15 Kaninchen auf:

Die 10 D 860-behandelten Tiere haben die Nummern:

618, 659, 660, 666, 667, 668, 671, 674, 675 und 676;

die 5 Kontrolltiere haben die Nummern:

655, 662, 663, 673 und 677.

Bei nur drei (von 10) der behandelten Tiere wurden die histologischen Präparate unmittelbar, d. h. einige Stunden nach der letzten Sondierung gewonnen, nämlich:

- bei Kaninchen Nr. 660 mit 52-tägiger (= 7  $\frac{3}{7}$  wöchiger) Behandlung nach 8 Stunden 10',

- bei Kaninchen Nr. 674 mit 40-tägiger (= 5  $\frac{5}{7}$  wöchiger) Behandlung nach 5 Stunden 50' und

- bei Kaninchen Nr. 671 mit 29-tägiger (= 4  $\frac{1}{7}$  wöchiger) Behandlung nach ca. 5 Stunden, von der D 860-Sondierung bis zur Dithizoneinspritzung an gerechnet.

Die restlichen 7 Tiere wurden sofort nach einer 8-Wochenschlussglukosebelastung operiert, d. h. nach einer 5-tägigen Karenzzeit in Bezug auf die duodenale D 860-Infusion, während der - wie bereits erwähnt - zwei Tage abgesetzt und dann in eintägigem Abstand zwei Glukosebelastungen ausgeführt wurden. Diese Versuchstiere wurden zugezogen, einmal um das Tiergut voll auszuwerten, zum anderen um die Eindrücke von den drei sofort operierten, auf die vor allem die Aussagen aufgebaut werden mussten, möglicherweise durch die 7 später operierten ergänzen zu können, aber auch um zu sehen, wie sich das Bild ändert, wenn fünf Tage keine Substanz gegeben wurde. Um die Tatsachen und Beziehungen, die anschließend aufgeführt und diskutiert werden sollen, leichter übersehbar zu machen, sei auf die Kurven der Abb. 9, S. 36 verwiesen.

Als Abszisse der Kurven sind die Behandlungstage, als Ordinate die Granulationsintensitäten mit den Abstufungen +, ++, +++, ++++ eingetragen. Von den beiden Kurven stammt die durchgezogene von den Pankreaspräparaten der sofort getöteten, die gestrichelte von den nach der letzten (8-Wochen) Schlussglukosebelastung getöteten Tieren. - Unter jedem Kurvenpunkt steht die Nummer des Kaninchens, von dem das Pankreaspräparat stammt; (die der Kontrollen ist wie immer einfach, die der sofort getöteten Tiere doppelt unterstrichen). Die senkrecht eingetragenen Balken, deren Mitte der Kurvenpunkt ist, geben die Schwankungsbreite der Granulationsintensität der vielen, von einer Pankreas angefertigten Schnitte wieder, der Mittel- und zugleich Kurvenpunkt, die mittlere Schwankungsbreite.

Definition und Granulationsgrade: Alle Präparate wurden mehrere Male in je einem Arbeitsgang einzeln durchmustert, beurteilt und darüber Notizen geführt. Anfangs sahen wir jeweils alle Kontrollpräparate durch und stuften mit ihrem mittleren visuellen Eindruck von Granulationsmenge und -intensität (= ++++) alle Versuchs-

präparate ein (wenn sie halb so voll mit Granula erschienen, mit ++, wenn  $1/4$ , mit + und wenn  $3/4$ , mit +++).

- Jedes histologische Schnittpräparat wurde zeilenförmig im Koordinationssystem durch Verstellung des Objekttisches abgefahren

- Das Kriterium für ein gut gelungenes histologisches Präparat war die saubere Darstellung des umgebenden sekretorischen Drüsenanteils und die saubere Anfärbung mitgefärbter Pankreasschnitte von Kontrolltieren.

- Ein als typisch ausgewähltes Kontrollpräparat (Abb. 6, S. 35) half die Erinnerung an den Kontrolldurchschnitt beim Durchsehen der Versuchspräparate immer wieder aufzufrischen.

Die Ergebnisse der getrennt in verschiedenen Arbeitsgängen und für jedes Tier einzeln aufgezeichneten Befunde wurden in einer Kurve (Abb. 9, S. 36) ausgewertet.

Eine Übertragung nachfolgender Extra- und Einzelbefunde in vorgenannte Kurve rundet das Ergebnis der Untersuchung ab. Diese Befunde wurden durch eine genaue Durchmusterung aller Präparate gewonnen, bei der streng auf die folgenden Punkte in A- und besonders in B-Zellen geachtet wurde:

- Art der Lagerung der beiden Zellarten im Gefüge der Langerhans' schen Inseln,
- Gibt es Kernpyknosen oder -mitosen?
- Wie verhält sich die Plasmamenge zum Kern?
- Wie stellt sich dem visuellen Eindruck die A:B-Zellrelation dar?

Unser Hauptaugenmerk wurde indes auf folgende Punkte gerichtet:

- Wie stark ist die Granulation der B-Zellen im Vergleich zu den Kontrollen?
- Wo sitzen die meisten Granula? (diffus verteilt, dem Gefässlumen zu- oder abgewandt?)

Diese Untersuchung ergab folgende Einzelbefunde:

- Bei Durchmusterung der histologischen Präparate (Dosierung von 0,5 g D 860 kg/die) konnte in den Langerhans' schen Inseln keine einzige Kernpyknose oder -mitose beobachtet werden. Nur schienen die Kerne der B-Zellen mit der Behandlungslänge an Grösse etwas zugenommen zu haben und heller geworden zu sein (vgl. Abb. 8 von Präparat Nr. 659, S. 35).
- Plasmamenge und Zellgrenzen zeigten bei keinem der Präparate signifikante Veränderungen
- Vom optischen Eindruck her konnten über die A:B-Relation keine Aussagen gemacht werden; sollte wirklich eine Abweichung von der Norm bei behandelten Tieren vorhanden gewesen sein, so war sie jedenfalls bei der visuellen Begutachtung nicht sehr eindrucksvoll und infolgedessen wahrscheinlich insignifikant.
- Bei der Prüfung der Granulationsverhältnisse der B-Zellen konnte festgestellt werden, dass die Granulation, wenn vorhanden, fast immer zu benachbarten Gefässlumina hin ausgerichtet war. Wir sahen kaum eine homogen-diffuse Granula-

Abbildungen von typischen Resultaten histologischer  
Untersuchungen

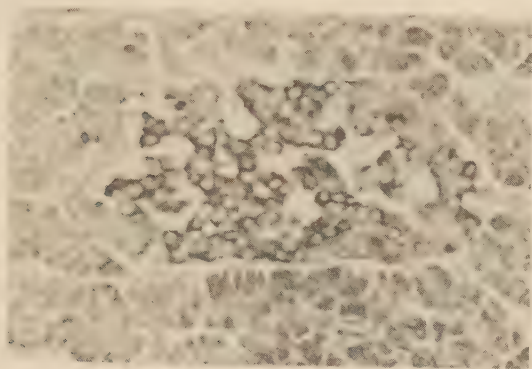


Abbildung 6  
Kontrolltier Nr. 655  
Vergr. 210 x

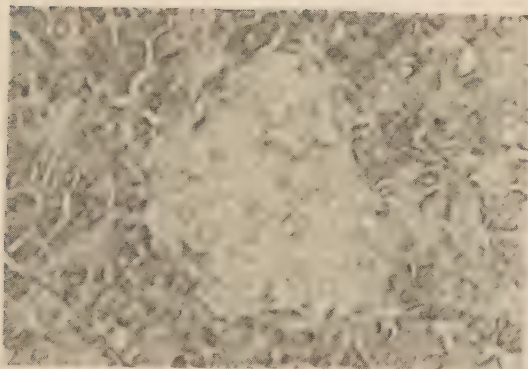


Abbildung 7  
Versuchstier Nr. 674  
Vergr. 150 x

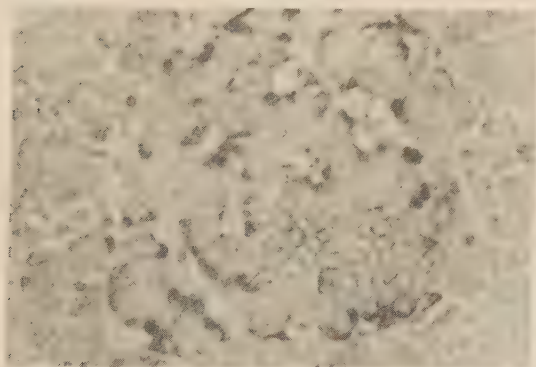


Abbildung 8  
Versuchstier Nr. 659  
Vergr. 160 x

# KURVENSCHEMA VON DEN ERGEBNISSEN DER HISTOLOGISCHEN UNTERSUCHUNGEN

Legend: — : Kurve der sofort getöteten Tiere

----- : Kurve der nach der 8-Wochenschlussglukosebelastung getöteten Tiere

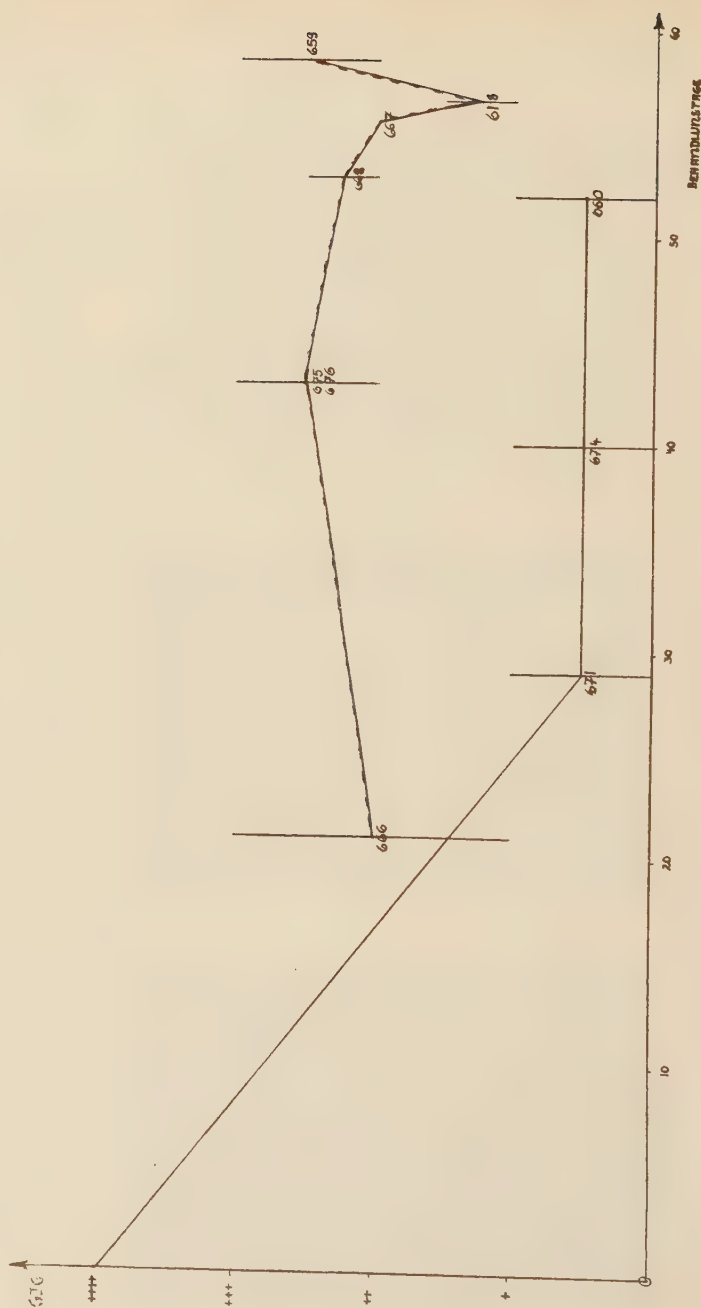


Abbildung 9

tion in den B-Zellen.

- Bei der Durchmusterung fielen besonders die histologischen Bilder von Tier Nr. 671 und 674 ins Auge. Hier stellten wir ein völliges Fehlen der Granulation in den B-Zellen fest.

In Abb. 7, S. 35 ist eine typische Pankreasinsel von Kaninchen Nr. 674 festgehalten, das 40 Tage (= 5 5/7 Wochen) D 860 erhalten hatte und 5 Stunden 50' nach der letzten Gabe von D 860 getötet wurde. Als Vergleich sei an die Aufnahme einer Insel des Kontrolltieres Nr. 655 (Abb. 6, S. 35) erinnert. Das gleiche Bild wie bei Nr. 674 zeigt sich bei Nr. 671, also am 40. und am 29. Behandlungstag.

- Unser Befund zeigt auch, dass sich die B-Zellen nach fünftägiger Unterbrechung der D 860-Behandlung sehr schnell "erholen" und fast wieder die normale Granulation zeigen. (Abb. 8)

### 5) HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN

Zur Auswertung standen 12 Tiere zur Verfügung:

8 Versuchstiere mit den Nummern: 618, 660, 667, 668, 671, 674, 675, 676 und  
4 Kontrolltiere mit den Nummern: 655, 662, 673 und 677.

Von den Versuchstieren gelangten zwei (Nr. 660 und Nr. 674) unmittelbar, d.h. einige Stunden nach der letzten Duodenalsondierung zur histologischen Untersuchung; Nr. 660 nach 7 1/4, Nr. 674 nach 5 1/4 Stunden. Die Bauchspeicheldrüsen der restlichen 6 Tiere wurden wie die der entsprechenden Tiere für die histologische Untersuchung unmittelbar nach Abschluss der letzten Glukosebelastung, also nach einem behandlungsfreien Intervall von fünf Tagen, für die histochemische Aufarbeitung entnommen.

Wie schon in der Einleitung angeführt, sind die Granula der histochemischen Methode wohl verschieden von den mit der histologischen Färbung dargestellten. An Gefrierschnitten nativ gefärbter Präparate lassen sich die folgenden Punkte nicht oder kaum beurteilen:

- die Kern-Plasma-Relation,
- das A:B-Zellverhältnis, da hierbei Zellgrenzen, Zellkerne usw. unscharf hervortreten, und
- die Verteilung der beiden Zellarten innerhalb der Langerhans'schen Inseln wegen ungenügender Differentialfärbung.

Wir konnten nur den optischen Eindruck der Granulierung in den Zellen verwerten, wobei wir den Grad der Granulaintensität, interpoliert aus den Komponenten Granulamenge, -grösse, -dichte und -färbung, durch optische Schätzung zu erfassen suchten.

Die Auswertung erfolgte, abgesehen von dem unmittelbaren Eindruck bei der Durch-

musterung der frischen Präparate, folgendermassen: Aus der Menge der Farbdia-positive, aufgenommen

- bei konstanter künstlicher Unterfeldbeleuchtung,
  - bei konstantem Okular (10-fach), aber
  - verschiedenem Objektiv (d. h. 10-, 15-, 25- und 40-fach) und
  - verschiedener Belichtungszeit (d. h.  $1/2$ ,  $1/5$ ,  $1/25$ ,  $1/50$  und  $1/125$  sec.)
- verglichen wir jeweils die unter gleichen Bedingungen aufgenommenen Dias.

Ohne Beachtung der Tiernummern, die mit allen anderen Angaben auf den Rähmchen der Diapositive verzeichnet waren, stellten wir auf einem horizontalen Leuchtschirm aus Milchglas die Intensitätsabstufung der Granulation für die einzelnen Präparate fest, die dann in der Reihenfolge von "leer" bzw. "schwach" nach aufwärts zu "stark" in ein geordnetes System gebracht und durchnummeriert wurden. Dementsprechend wurde ein Schema (Abb. 13, S. 41) zusammengestellt, das die jeweilige Belichtungszeit, das Objektiv, die Zahl der Behandlungstage und den Intensitätsgrad der Granulation enthält.

Um das Schema im Hinblick auf Zu- bzw. Abnahme des Granulationsintensitätsgrades anschaulicher zu gestalten, stellten wir folgendes Kurvenschema auf (Abb. 14, S. 43):

Als Abszisse sind die Behandlungstage angegeben, als Ordinate die Granulationsintensität von 1 an ansteigend. Die Werte der fünf auswertbaren Gruppen bei verschiedenem Objektiv und unterschiedlicher Belichtungszeit ergeben fünf Kurven:

- 1) bei Objektiv 10-fach, Belichtungszeit  $1/10''$
- 2) bei Objektiv 10-fach, Belichtungszeit  $1/25''$
- 3) bei Objektiv 25-fach, Belichtungszeit  $1/2''$
- 4) bei Objektiv 25-fach, Belichtungszeit  $1/10''$
- 5) bei Objektiv 45-fach, Belichtungszeit  $1/2''$

Unter jedem Punkt der Kurve ist die Tiernummer angegeben. Der wesentliche Befund, der erstrebt wurde, kommt wie folgt zum Ausdruck:

Die Granulation nimmt offensichtlich zunächst im Laufe der Behandlung ab; nach etwa 29 Tagen wird anscheinend ein Minimum an Granulation erreicht. Von einem Fehlen der Granulation vom 29. Tag an nimmt die Intensität der Granulation anscheinend im Laufe der weiteren Behandlung langsam, oder, was nach den histologischen Untersuchungen eher zutrifft, nach längerem Granulationsleerzustand wieder zu. Besonders deutlich zeigt das die Kurve 4, die sich aus den meisten Einzelbefunden zusammensetzt (bei Objektiv 25-fach, Belichtungszeit  $1/10''$ ).

Hier ist auch das besonders wertvolle Präparat Nr. 674 vertreten, dem nahezu jede Granulierung fehlt. Demnach ist anzunehmen, dass die Granulation zunächst verschwindet, um dann später wieder zuzunehmen. Wann und in welchem Verlauf dieses Minimum erreicht wird, (bei 0,5 g/kg/die), könnten nur weitere Versuche

Abbildungen von typischen Resultaten histochemischer  
Untersuchungen

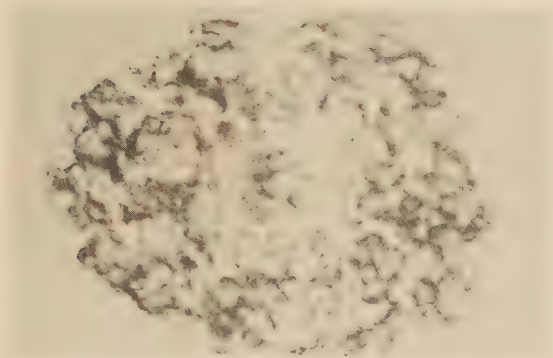


Abbildung 10  
Kontrolltier Nr.655  
Vergr. 250 x

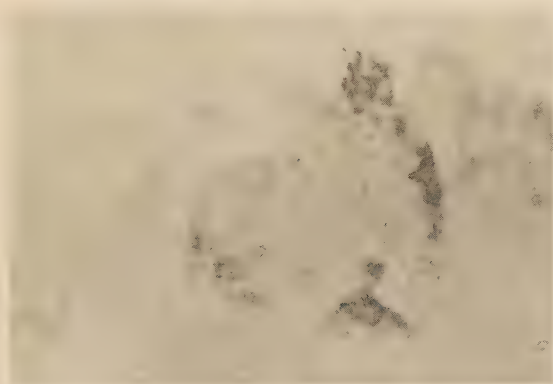


Abbildung 11  
Versuchstier Nr.674  
Vergr. 250 x



Abbildung 12  
Versuchstier Nr.667  
Vergr. 250 x

klären.

In der Aussage wertvoller und abgerundeter werden diese Kurven, wenn man auf auffallende Einzelbefunde der Farbdiapositive achtet. Davon ist erwähnenwert: (Vergleiche Abb. 10, 11 und 12 mit diesen Kurven!). Bei dem bedeutungsvollen Präparat 674, gewonnen nach 40-tägiger (d. h. 5 5/7-wöchiger) Behandlung, fehlt nahezu jede Granulierung.

# Übersicht der Auswertung histochemischer Befunde

Okular: konstant 10 x

Objektiv:  $\longrightarrow$ 

| Belichtungszeit      | 10 x                                                       | 15 x      | 25 x                                                                                                                                      | 45 x                             |
|----------------------|------------------------------------------------------------|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| $\downarrow$         |                                                            |           | 660 52 T. 2)<br>674 40 T. 3)<br>671 29 T. 1) (3)<br><u>662 55 T. 4)</u>                                                                   | 660 52 T. 2)<br>671 29 T. 1) (5) |
| $\frac{1}{2}$ Sek.   |                                                            |           |                                                                                                                                           |                                  |
|                      | 668 52 T. 1)<br><u>677 38 T. 2)</u><br><u>662 55 T. 3)</u> |           |                                                                                                                                           | 660 52 T.                        |
| $\frac{1}{5}$ Sek.   |                                                            |           |                                                                                                                                           |                                  |
|                      | 660 52 T. 3)<br>618 55 T. 2) (1)<br>671 29 T. 1)           | 660 52 T. | 674 40 T. 1)<br>667 54 T. 4)<br>676 52 T. 3)<br>675 43 T. 2) (4)<br><u>673 54 T. 6)</u><br><u>655 38 T. 7)</u><br><u>662 55 T. 5)</u> (K) | 660 52 T.                        |
| $\frac{1}{10}$ Sek.  |                                                            |           |                                                                                                                                           |                                  |
|                      | 667 54 T. 1)<br>676 52 T. 2) (2)<br><u>677 38 T. 3)</u>    |           | 618 55 T. 1)<br>675 43 T. 2)                                                                                                              |                                  |
| $\frac{1}{25}$ Sek.  |                                                            |           |                                                                                                                                           |                                  |
|                      | 618 55 T.                                                  |           | 675 43 T.                                                                                                                                 | 660 52 T.                        |
| $\frac{1}{50}$ Sek.  |                                                            |           |                                                                                                                                           |                                  |
|                      | 667 54 T. 1)<br>676 52 T. 2) (2)                           |           | 675 43 T.                                                                                                                                 |                                  |
| $\frac{1}{125}$ Sek. |                                                            |           |                                                                                                                                           |                                  |

(Legende siehe nächste Seite)

Abbildung 13

# Legende zur Übersicht der Auswertung histochemischer Befunde

Die Spaltenangabe besagt:

Links:            Tiernummer    =    Versuchstier

                        Tiernummer    =    Kontrolle

Mitte:            Anzahl der Behandlungstage

Rechts:           Interpolierter Granulations-Intensitätsgrad (aus den beiden Komponenten Granulamenge und -anfärbung) vergleichend auf dem Leuchtschirm eingestuft.

Die höchste Zahl bezeichnet den höchsten Granulationsgrad.

(    )            Kurvennummer.

# Schematische Kurven der Ergebnisse der histochemischen Untersuchung

Legende: — : Objekt 25x, Bel. Zeit 1/10 Sek. Kurve 4  
 — : Objekt 25x, Bel. Zeit 1/2 Sek. " 3  
 ..... : Objekt 45x, Bel. Zeit 1/2 Sek. " 5  
 -.-.-.- : Objekt 10x, Bel. Zeit 1/10 Sek. " 1  
 -.-.-.- : Objekt 10x, Bel. Zeit 1/25 Sek. " 2  
 -.-.-.- : Kontrollen

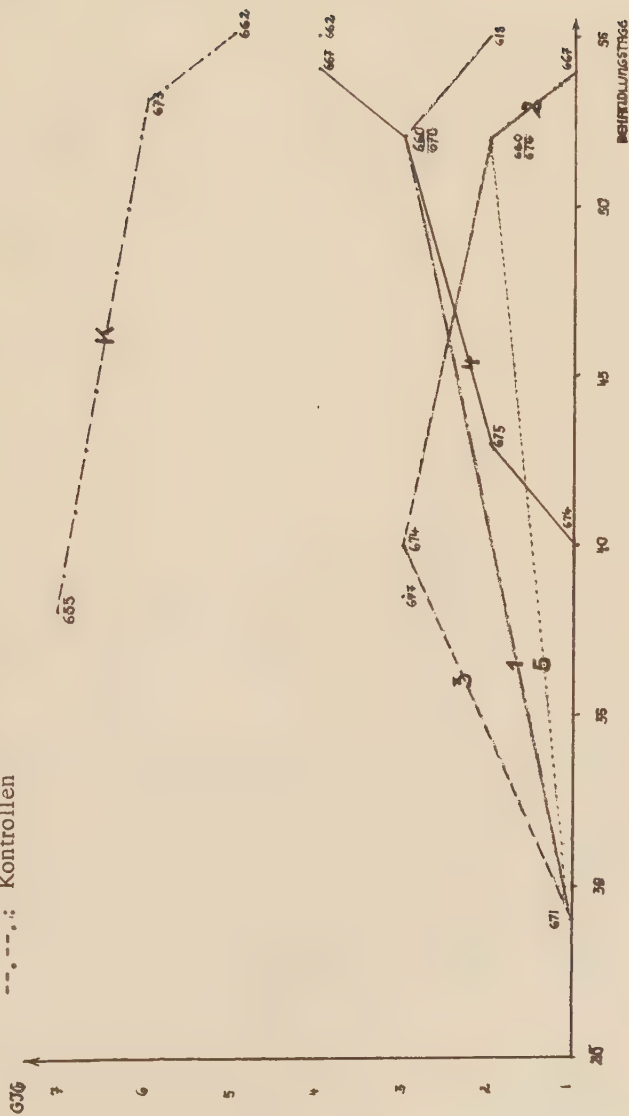


Abbildung 14

Bei dem zeitlich frühesten Präparat 671, das nach 29-tägiger (d.h. 4 5/7-wöchiger) Behandlung aufgenommen wurde, erreicht die Granulation wohl das Minimum von allen Präparaten.

Bei dem Präparat 667, gewonnen nach 54-tägiger (d.h. 7 5/7-wöchiger) Behandlung ist die Granulierung nahezu so stark wie bei den Kontrollen 655, 662 und 673.

Die beiden Präparate 675 und 676, gewonnen nach 43- bzw. 53-tägiger (d.h. 6 1/7 bzw. 7 4/7-wöchiger) Behandlung, zeigen bezüglich der Intensität der Granula kaum einen Unterschied; 675 ist nur minimal stärker granuliert. Das kann bedeuten, dass die Granulierung in dem Zeitintervall von 43- bis 53-tägiger Behandlung fast gleichbleibend ist (siehe Kurve Abb. 14, S. 43).

Auffällig ist bei den Präparaten des Tieres Nr. 660 (mit 52-tägiger Behandlung), dass das Zellplasma oft gering erscheint. (Das wäre evtl. ein weiteres Zeichen dafür, dass eine Inaktivität nicht nur funktionell, sondern auch morphologisch sichtbar wird).

Als Belege für diese Arbeit werden die Diapositive folgender Tierpräparate in Abdruck beigelegt (S. 41):

Nr. 667,

Nr. 674 (besonders wertvoll) und

Nr. 655 (als Kontrolle).

Sie wurden aus dem reichlichen Material ausgewählt, das bei den Aufnahmebedingungen Objektiv 25-fach und Belichtungszeit 1/10'' anfiel; (vgl. Abb. 10, 11 u. 12, S. 39). Damit sind die wichtigsten Punkte unserer wesentlichsten Kurve (s. Abb. 14, S. 43) auch für die Anschauung festgehalten.

Im Unterschied zu den Befunden bei sofort nach Behandlungsende getöteten Tieren zeigten die B-Zellen der Tiere, die zunächst noch zwei Glukosebelastungen erfuhren und daher weitere fünf Tage ohne Behandlung blieben, bevor sie getötet wurden, stets sehr viel mehr Granulierung. Im übrigen findet sich aber in der Granulierung hier ein so variables Verhalten während der Behandlungszeit (vgl. Abb. 9, S. 36), dass wir daraus keine Schlussfolgerung ziehen können. Beachtlich ist jedenfalls, dass die Granulierung nach Abbruch der D 860-Gaben, wenn auch uneinheitlich, so doch schnell wieder erscheint.

## IV. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

### 1) STOFFWECHSEL

Körpergewichte, Tagesprofile und Glukosebelastungen verändern sich während einer bis zu acht Wochen dauernden Behandlung mit D 860 nicht. Dies zeigt, dass keine stärkere Störung des Grundstoffwechsels, keine Änderung der Ansprechbarkeit auf D 860 und der Glukosetoleranz, insgesamt also keine wesentliche Störung der B-Zell-Funktion eingetreten ist. Das Funktionsganze des Kohlenhydratstoffwechsels zeigt bei vorliegender Dosierung und Dauer der Behandlung hinsichtlich Körpergewicht, Regulationsvermögen des Blutzuckers im Tagesablauf (Tagesprofil) und selbst hinsichtlich der Zuckerbelastungen keine Veränderungen.

### 2) HISTOLOGISCHE UND HISTOCHEMISCHE BEFUNDE

Die histologischen und histochemischen Befunde (vgl. Abb. 9 u. Abb. 14, S.36 bzw. 43) stimmen im Wesentlichen überein. Bis etwa zum 29. Behandlungstag nimmt die Granulation ab; vom 29. bis 52. Behandlungstag findet man histologisch und histochemisch kaum noch eine wesentliche Granulation in den B-Zellen. Wenn allerdings die Behandlung nur einige Tage ausgesetzt wird, wie z.B. während der Schlussglukosebelastungen, beobachtet man ein schnelles Wiederkommen der Granulation. Das ist wohl ein Zeichen dafür, dass sich der einzelne Organismus darauf "besinnt", in seine ursprüngliche Regulationsmittelstellung zurückzupendeln, nachdem der Therapieeinfluss abklang. Diese Wiedereinregulierung zu beobachten, wäre eine Sonderaufgabe.

Beide Methoden beziehen sich zwar - wie eingangs erwähnt - nicht auf die gleichen, sondern entweder auf verschiedene Granula oder auf verschiedene Teile der gleichen Granula im Protoplasma, weisen aber weitgehend übereinstimmende Befunde auf, zumindest nur die untersuchte Behandlungsdauer und -intensität.

Die im Verlauf mit D 860 sich entwickelnde Granulationsleere ähnelt der nach Behandlung mit Adrenalin oder nach mehrfachen Glukosebelastungen. Von der Granulationsleere "erholt" sich auch hier die B-Zelle rasch wieder, wenn das Präparat abgesetzt wird. Der Zustand war demnach passager.

Diese Beobachtungen lassen sich verschieden deuten: Einmal könnte die Verarmung an Granula durch eine forcierte Insulinabgabe ins Blut bedingt sein. Insulin wird rasch aus der Zelle genommen, so dass diese leer erscheint, obwohl der Hormonumsatz hoch ist. Aber es könnte auch das Übertreten des Insulins von der Zelle durch die Zellmembran in die Blutbahn erleichtert werden. Für beides spräche, dass das Zink, welches mit dem Insulin grösstenteils ausgeschieden wird,

histochemisch nicht mehr nachweisbar ist.

Sollte sich der bei uns angedeutete Wiederanstieg der Granulationsintensität bestätigen, so wäre unsere Vorstellung folgende:

Die Produktionsgeschwindigkeit von Insulin folgt dem Mehrbedarf während einer längerdauernden D 860-Behandlung, und die Differenz zwischen Produktion und Bedarf wird geringer.

Unsere Annahme, dass sich das ganze Funktionsgeschehen hauptsächlich in den B-Zellen abspielt, deckt sich mit den Ergebnissen der Untersuchungen von BERHET u. Mitarb. (10), die einen unveränderten Glukagongehalt des Kaninchenpankreas nach D 860-Gaben feststellten. Dieser Befund spricht gegen eine Beteiligung der A-Zellen an der SH-Wirkung.

Dass das Inselsystem im ganzen bei gesunden Versuchstieren unter D-860 nicht hypertrophiert, wurde von anderen Autoren, besonders von CREUTZFELD gezeigt.

Ein Anhalt dafür, dass (A- oder) B-Zellen zugrunde gehen oder atrophieren, ergab sich aus unseren Untersuchungen nicht. Bei der Durchmusterung der histologischen Präparate fanden sich während des Behandlungszeitraumes weder Kernpyknoten oder Degenerationerscheinungen, noch Mitosen als Ausdruck einer reaktiven oder reparativen Hyperplasie.

Auch eine Verschiebung des Verhältnisses der A- zu den B-Zellen als Hinweis auf eine Stimulierung des B-Zellenwachstums konnten wir, soweit sich das eindrucksmässig beurteilen liess, nicht feststellen.

Die A-Zellen zeigten histologisch und histochemisch mit unseren Färbemethoden nie eine Änderung des Bildes. Sie erscheinen immer hellrot und zeigen im Vergleich mit den B-Zellen einen kleineren, etwas stärker rot angefärbten Kern.

Die B-Zellkerne erschienen öfters - Kerngrössenmessungen wurden allerdings nicht durchgeführt - nach längerer D 860-Behandlung grösser und heller, auch wenn man berücksichtigt, dass das Protoplasma an sich homogener und heller wurde. Der helle Kern zeigte darüber hinaus eine rote Tüpfelung. Diese erklärt sich wahrscheinlich damit, dass bei gesteigertem Zellstoffwechsel die Nukleolen auffallend gross und plump werden und an Zahl zunehmen. Die Kernveränderungen lassen sich am wahrscheinlichsten im Sinne einer vermehrten Zellaktivität als funktionelles Kemödem deuten.

Bemerkenswert ist schliesslich noch folgender Befund: Bei dem histochemischen Präparat von Tier Nr. 671 wie auch von Nr. 674 und anderen Tieren fällt der besonders geringe Granula- und damit Zinkgehalt der B-Zellen auf. Bei sehr starker Vergrösserung erkennt man aber deutlich die Granula, nur dass diese jetzt sehr zart angefärbte Gebilde darstellen. Daraus könnte man schliessen, dass sich im Zinkspeichervermögen der B-Zellen etwas verändert haben muss. Vielleicht

hat die Substanz D 860 durch ständige Einwirkung auf die frisch und möglicherweise vermehrt gebildeten Inkrete der Zelle das Zinkspeichungsvermögen herabgesetzt, oder hat sich der Speicherungscharakter (mit den beiden Extremen: diffus im Protoplasma - konzentriert zu Granula) durch D 860 verändert, oder es ist überhaupt die Zinkspeicherungsfähigkeit durch D 860 verloren gegangen. Mit unseren Methoden haben wir keine Möglichkeiten, diese Hypothesen weiter zu unterbauen.

### 3) AUSBLICK

Eine andere Erklärung für die Degranulation während der achtwöchigen Behandlung mit D 860 wäre in einer Inaktivitätsatrophie der B-Zellen zu suchen, wie sie z.B. durch eine insulinähnliche Wirkung der Substanz ausserhalb der Langerhans'schen Inseln verursacht sein könnte. Durch eine längerdauernde Behandlung von Hunden mit Insulin lässt sich z.B. ebenfalls eine Degranulierung der B-Zellen erzielen.

Da aber die grossen Kerne und die schnelle Regeneration der Granulation beim Absetzen der Behandlung gegen eine Inaktivitätsatrophie sprechen, neigen wir eher zu der zuerst geschilderten Vorstellung, dass D 860 die Insulinabgabe aus den B-Zellen stimuliert.

## V. ZUSAMMENFASSUNG

Kaninchen erhielten bis zu 8 Wochen täglich 0,5 g D 860/kg Gew. mit der Duodenalsonde.

Das Körpergewicht verhielt sich wie das der Kontrollen. Die Empfindlichkeit der Tiere im Hinblick auf die durch D 860 erzeugte Blutzuckersenkung ändert sich im Verlauf einer 8-wöchigen Behandlung nicht.

Die Kohlenhydrattoleranz, untersucht am Blutzuckerverhalten nach i. v. Injektion von 1 g Glukose/kg K. Gew. änderte sich ebenfalls nicht. Bei der histologischen Untersuchung der Langerhansschen Inseln fand sich eine Degranulierung der B-Zellen, die nach 29 Behandlungstagen fast komplett war. Nach dem 52. Tag wurde wieder eine geringe Granulierung beobachtet.

Die Nativfärbung des Inselzins mit Dithizon zeigte ein ähnliches Verhalten der Zn-Granula in den B-Zellen.

Nach mehrtägigem Aussetzen der Behandlung wurden wieder mehr histologisch und histochemisch darstellbare Granula gefunden. Eine Klärung des Wirkungsmechanismus der blutzuckersenkenden Substanz ist nach den eigenen Beobachtungen nicht möglich, weil die Degranulierung sowohl Ausdruck einer vermehrten Aktivität als auch das Bild einer mässigen Inaktivitätsatrophie der B-Zellen sein kann. Unter Berücksichtigung jüngst in der Literatur beschriebener Beobachtungen muss eher an eine vermehrte Aktivität der Insulin-produzierenden Zellen als Ursache der Degranulierung gedacht werden.

## VI. SCHRIFTTUM

- 1) ACHELIS, J.D. u. HARDENBECK, K.:  
Dtsch. med. Wschr. 80 (1955) 1452.
- 2) ANDERSON, G.E.:  
Proc. Soc. exp. Biol. 92 (1956) 340.
- 3) ANDERSON, G.E.:  
Diabetes 6, (1957) 34.
- 4) ASHMORE, I.:  
Ann. N.Y. Acad. Sci. 71 (1957) 131.
- 5) ASHMORE, I.:  
Diabetes 7, (1958) 1.
- 6) ASHWORTH, M.A., HAIST, R.E.:  
Canad. Med. Ass. J. 74 (1956) 975.
- 7) BÄNDER, A.:  
New York Acad. Sciences, Sect. Biology 1957
- 8) BECKER, W.H.:  
Klin. Wschr. 34 (1956) 920.
- 9) BERINGER, A. u. LINDNER, A.:  
Wien. Klin. Wschr. 68 (1956) 316.
- 10) BERTHET, J., SUTHERLAND, E.W., MARKMAN, M.H.:  
Metabolism 5 (1956) 768.
- 11) BERTRAN, F., BENDELDT, G. u. OTTO, H.:  
Dtsch. med. Wschr. 80 (1955) 1455.
- 12) BONHÖTE, D., CONSTAM, G.R. u. LABHART, A.:  
Helv. med. acta 23 (1956) 480.
- 13) CLARKE, D.W., DAVIDSON, M., SCHÖNBAUM, E. u. SENMAN, M.:  
Canad. Med. Ass. J. 74 (1956) 966.
- 14) CREUTZFELD, W. u. FINTER, H.:  
Dtsch. med. Wschr. 81 (1956) 892.
- 15) CREUTZFELD, W., TECKLENBORG, E.:  
Arch. exper. Path. Pharmac. 227 (1955) 23.
- 16) CREUTZFELD, W., TECKLENBORG, E.:  
Klin. Wschr. 33 (1955) S. 43.
- 17) DIENGOTT, D., MIRSKY, J.A. u. DOLGER, H.:  
Metabolism 5 (1956) 875.

- 18) FAJANS, S.S., LOUIS, L.H., SELTZER, H.S., JOHNSON, R.D.,  
GITTLER, R.D., HENNES, A.R., WAICHENBERG, B.L., ACKERMANN,  
J.P. u. CONN, J.W.: Metabolism 5 (1956) 820.
- 19) FERNER, H.: Vortrag Ärztl. Verein Hamburg,  
Biol.-Naturwiss. Sekt., 13.II.1956.
- 20) FERNER, H. u. RUNGE, W.: Arzneimittel-Forsch. 6 (1956) 256.
- 21) FRANKE, H. u. FUCHS, J.: Dtsch. med. Wschr. 80 (1955) 1449.
- 22) FRITZ, J.B., MORTON, J.V., WEINSTEIN, M. u. LEVINE, R.:  
Metabolism 5 (1956) 744.
- 23) GEPTS, W., CRISTOPHE, J. und BELLONS, R.:  
Ann. d'Endocrinol. 17 (1956) 278.
- 24) GOETZ, F.G., GILBERTSEN, A.S. u. JOSEPHSON, V.:  
Metabolism 5 (1956) 788.
- 25) GOLDNER, M.G.: Diabetes 6 (1957) 53.
- 26) GOLDNER, M.G.: Diabetes 7 (1958) 409.
- 27) HOUSSAY, B.A.: Metabolism 5 (1956) 727.
- 28) HOUSSAY, B.A.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 71 (1957) 12.
- 29) HOUSSAY, B.A.: C.R. Soc. Biol. 150 (1956) 1473.
- 30) HOUSSAY, B.A.: C.R. Soc. Biol. 150 (1956) 1618.
- 31) HOUSSAY, B.A.: C.R. Soc. Biol. 151 (1957) 1757.
- 32) HOFF, F.: Klin. Physiologie und Pathologie, 5.A.,  
Stuttgart 1957.
- 33) v. HOLT, G., v. HOLT, L., KRÖNER, B.:  
Naturwiss. 43 (1956) 162.
- 34) JANBON, M., CHAPTAL, J., VEDEL, A. u. SCHAAP, J.:  
Montpellier méd. 21-22 (1942).
- 35) JANBON, M., LAZARGES, P. u. METROPOLITANSKI, J.H.:  
Montpellier méd. 21-22 (1942) 489.
- 36) KRACHT, J., v. HOLT, C. u. v. HOLT, L.:  
Endokrinologie 34 (1957) 129.
- 37) KRACHT, J., KRÖNER, B., v. HOLT, L. u. v. HOLT, C.:  
Naturwiss. 44 (1957) 16.

- 38) KRACHT, J., RAUSCH-STROOMANN, J.G.:  
Naturwiss. 43 (1956) 180.
- 39) KÜHNE, P., KÖRTGE, P. u. BILLION, H.:  
Klin. Wschr. 35 (1957) 616.
- 40) LANG, S. u. SHERRY, S.: Metabolism 5 (1956) 733.
- 41) LOUBATIÈRES, A.: Physiologie et Pharmacodynamie de certains dérivés sulfonamides hypoglycémisants. Contribution à l'étude des substances synthétiques à tropisme endocrinien. Thèse Doctorat Sci. Naturelles, Montpellier 1946.
- 42) LOUBATIÈRES, A.: Presse méd. 63 (1955) 1701.
- 43) LOUBATIÈRES, A., GOLDSTEIN, L., METROPOLITANSKI, J.H. u. SCHAAP, J.D.: Comm. LXIII<sup>e</sup> Congr. Médic. aliénistes et neurologistes de France et des pays de langue française. Montpellier 28-30. X. 1942.
- 44) MADISON, L.L.: J. clin. Invest. 37 (1958) 631.
- 45) MADISON, L.L.: Metabolism 7, (1958) 227.
- 46) MASKE, H.: Experientia, Basel 11 (1955) 122.
- 47) MASKE, H.: Klin. Wschr. 33 (1955) 1058.
- 48) MASKE, H.: Diabetes Vol. 6 (1957) 335-341.
- 49) MASKE, H.: Dtsch. med. Wschr. 81 (1956) 899.
- 50) MRSKY, J.A.: Metabolism 5 (1956) 138.
- 51) PFEIFFER, E.F., STEIGERWALD, H., SANDRITTER, W., BÄNDER, A., MAYER, A., BECKER, U., RETIENE, K.:  
63. Tagung Dtsch. Ges. inn. Med.  
29.IV. - 2.V.1957, Wiesbaden,  
(Med. Klin. 52 (1957) 968).
- 52) PURNELL, R.: Metabolism 5 (1956) 778.
- 53) RECAN, L.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 71 (1957) 62.
- 54) RECKNAGEL, K.: Medizinische 1956, 1633.
- 55) ROOT, M.A.: Diabetes 6 (1957) 12.

- 56) Sammelreferat Dtsch. med. Wschr. 81 (1956) 823, 887-906.
- 57) Sammelreferat Dtsch. med. Wschr. 82 (1957) 1514-1592.
- 58) STÖTTER, G. u. CREUTZFELD, W.:  
Dtsch. med. Wschr. 81 (1956) 840.
- 59) STÖTTER, G., MOHNIKE, G., CREUTZFELD, W., SEUS, R.,  
SCHLAGINTWELT, St., ULRICH, H.:  
Dtsch. med. Wschr. 81 (1956) 835.
- 60) SUMM, H.D.: Inaugural-Dissertation Freiburg 1958
- 61) VOLK, B.W., WEISENFELD, S., LAZARUS, S.S. u. GOLDNER, M.G.:  
Metabolism 5 (1956) 894.
- 62) WALLENFELS, K.: Dtsch. med. Wschr. 82 (1957) 1581.
- 63) WALLENFELS, K.: Klin. Wschr. 35 (1957) S. 849.

Herrn Dr. med. habil. Helmut MASKE spreche ich  
an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus  
für die Überlassung des Themas und die fürsorgliche  
Beratung und Unterstützung während der Arbeit.

## L E B E N S L A U F

Am 4. März 1934 wurde ich als Sohn des technischen Amtmanns Georg Kumpermond und seiner Ehefrau Zenta, geb. Dangl, in München geboren. - Vier Jahre besuchte ich die Volksschule Dresden/Strehlen und begann an der Dietrich-Eckhart Oberschule meine Höhere Schulausbildung. Ein halbes Jahr darauf, am 13./14. Februar 1945 verlor unsere Familie durch einen Grossfliegerangriff Hab und Gut. Wir flohen kurz vor der russischen Invasion ins Fichtelgebirge und zogen von dort weiter nach München. - Hier besuchte ich das Ludwigsgymnasium (damals Oberschule im Abbau) und legte im Juni 1952 das Abitur ab. Ein Jahr studierte ich dann mit einem amerikanischen Staatsstipendium als Auslandsstudent an der University of Delaware, Newark / Delaware, Chemie. An der Universität München fasste ich den Entschluss Medizin zu studieren, wo ich nach vier Semestern, im Sommer 1955, die ärztliche Vorprüfung ablegte. - In den Ferienmonaten des Sommers 1956 und 1957 arbeitete ich jeweils ein viertel Jahr als "Intern en remplacement" an der Universitätsklinik von Nantes/Loire-Inf. in der Infektions- und Neurologischen und Neurochirurgischen Abteilung. Darüber hinaus habe ich noch 10 Wochen in der Medizinischen Universitätsklinik und je drei Wochen in der Kinder-, I. Frauen- und Nerven-klinik in München famuliert. Nach dem Sommersemester 1958 schloss ich mein Studium mit dem medizinischen Staatsexamen ab.







